Aus dem Institut für Pharmakognosie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

Lipophile Flavonoide
aus Gnaphalium obtusifolium (L.)

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dieter Ohlendorf
aus Soest/Westf.

1970

Aus dem Institut für Pharmakognosie
der Freien Universität Berlin
Direktor: Professor Dr. Rudolf Hänsel

Lipophile Flavonoide
aus Gnaphalium obtusifolium (L.)

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dieter Ohlendorf
aus Soest/Westf.

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Referent: Professor Dr. R. Hänsel
Korreferent: Professor Dr. G. Schenck

Tag der mündlichen Prüfung: 3. Juni 1970
Tag der Promotion: 9. JULI 1970

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin auf Anregung und unter Leitung von Herrn Professor Dr. Rudolf Hänsel durchgeführt.

Meinem verehrten akademischen Lehrer, Herrn Professor Dr. R. Hänsel, möchte ich an dieser Stelle für seine fördernde Unterstützung, sein großes Interesse am Fortgang meiner Arbeit und für seine zahlreichen und wertvollen Ratschläge danken.

Meinen aufrichtigen Dank möchte ich auch Herrn Dr. H. Rimpler, Wissenschaftlicher Rat und Professor am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin, sowie Frau Dr. L. Langhammer, Wissenschaftlicher Rat und Professor an dem gleichen Institut, und Herrn Dr. Ch. Leuckert, Akademischer Rat am Institut für Systematische Botanik und Pflanzengeographie der Freien Universität Berlin, aussprechen, die mir stets mit Rat und Auskünften behilflich waren.

Mein besonderer Dank gilt auch der Schering AG, Berlin, vor allem Herrn Dr. Gibian, der mir durch ein großzügig gewährtes Stipendium die Durchführung der Arbeit ermöglichte.

Herrn Dr. K. Rehse und Fräulein Dreke vom Pharmazeutischen Institut der Freien Universität Berlin danke ich für die Aufnahme von NMR-Spektren und Herrn Dr. G. Schulz von der Firma Schering AG, Berlin, für die Aufnahme von NMR- und Massenspektren.

Mein herzlicher Dank gilt allen Mitarbeitern am Institut für Pharmakognosie, die sich jederzeit um die Erfüllung meiner Wünsche bemühten.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546513_0074

Inhaltsverzeichnis

I Einleitung und Problemstellung 7

II Botanik von Gnaphalium obtusifolium 8

III Allgemeines über Gnaphalium obtusifolium und bisherige Untersuchungen der Pflanze 9

IV Spektroskopische Methoden zur Strukturaufklärung von Flavonen, Flavonolen und Flavanonen 10

1. UV-Spektroskopie 10

1.1. Die Auswirkung der Hydroxylierung auf das Grundspektrum 11

1.1.1. Bei Flavonen 11

1.1.2. Bei Flavanonen 12

1.2. Die Veränderung des Spektrums durch Verätherung und Acetylierung der OH-Gruppen 12

1.3. Einige Methoden zur Substitutionsbestimmung 13

1.3.1. 4'-Hydroxyflavone bestimmt durch Natriummethylat 13

1.3.2. 7-Hydroxyflavone bestimmt durch Natriumacetat 13

1.3.3. o-Dihydroxygruppierungen bestimmt durch Natriumacetat/Borsäure 13

1.3.4. 3,5-Hydroxyflavone bestimmt durch Aluminiumchlorid 14

1.3.5. Die Anwendung dieser Methoden bei Flavanonen 14

2. IR-Spektroskopie 15

2.1. Die Carbonylbande bei Flavanonen . . 16

2.2. Die Carbonylbande bei Flavonen . . . 17

3. Kernresonanzspektroskopie 18

3.1. Allgemeines 18

3.2. Einfluß einer Acetoxygruppe auf die chemische Verschiebung der Protonen 20

3.3. Veränderung der chemischen Verschiebung nach dem Austausch der Methoxygruppe durch eine Acetoxygruppe 21

3.4. Die chemische Verschiebung der H-6 und H-8 nach der Acetylierung der 5-OH-Gruppe 21

3.5. Unterscheidung zwischen H-6, H-8 und H-3 bei Flavonen durch Trimethylsilyläther 21

3.6. Bestimmung von o-Protonen durch Lösungsmitteländerung 22

4. Massenspektroskopie der Flavone 22

V. Eigene Untersuchungen

H a u p t t e i l

1. Chromatographische Bestimmung und Isolierung der Verbindungen Gn, Gn_2, Gn_3, Gn_{125} aus den oberirdischen Teilen von Gnaphalium obtusifolium 28

2. Identifizierung der Verbindung Gn . . . 29

2.1. Spektroskopische Methoden 29

2.2. Chemischer Beweis 35

3. Identifizierung der Verbindung Gn_2 . . . 35

3.1. Als Monomethyläther des Gnaphaliins (Gn) 35

3.2. Die Synthese des Gn-Monomethyläthers 37

4. Identifizierung der Verbindung Gn_3 . . . 43

5. Charakterisierung der Verbindung Gn_{125} 49

5.1. Durch spektroskopische Methoden und theoretische Berechnungen des ABX-Systems 49

5.1.1. Berechnung der Kopplungskonstanten J_{AX} und J_{BX} 53

5.1.2. Berechnung der chemischen Verschiebung für die Protonen A, B, X 54

5.1.3. Berechnung der Frequenzen der Linien im AB-Teil 55

5.1.4. Diskussion der IR- und UV-Spektren . . 57
5.2. Hydrierung der Substanz 59
5.3. Optische Drehung der Substanz. 60
5.4. Acetylierung der Substanz und Diskussion der Spektren 61
5.5. Methylierung der Substanz und Diskussion der Spektren 62

VI Experimenteller Teil

1. Extraktion der Droge. 68
2. DC-Chromatographie der Chloroform-ausschüttelung 68
3. Isolierung der Substanzen Gn, Gn_2, Gn_3, Gn_{125}. 68
4. Eigenschaften von Gnaphaliin (Gn) 69
4.1. Alkalispaltung des Gn 70
4.2. Überführung von Gn in Gn-Monomethyl-äther. 71
4.3. Acetylierung von Gn 72
5. Eigenschaften von Gn_2 72
5.1. Alkalispaltung 73
5.2. Oxydation zum 3,7-Dimethoxy-5,8-chinoflavon 73
5.3. Synthese von Gn-Monomethyläther. . . . 74
5.4. Vergleichschromatographie des natürlichen Gn_2 mit synthetischem Gn_2 und Gn-Monomethyläther 75
6. Eigenschaften von Gn_3 75
7. Eigenschaften von Gn_3-Dimethyläther . . . 77
8. Eigenschaften von Gn_{125} 78
8.1. Optische Drehung 79
8.2. Acetylierung von Gn_{125} 79
8.3. Methylierung von Gn_{125} 80
8.4. Eigenschaften von 2_1 81
8.5. Eigenschaften von 2_3 81
8.6. Eigenschaften von 3_1 82
8.7. Hydrierung von Gn_{125} 82

VII Diskussion 84

VIII Zusammenfassung 87

IX Literaturverzeichnis 88

X Lebenslauf 92

I. Einleitung und Problemstellung

Unter dem Abschnitt "Systematische Stellung und Gliederung der Gattung Gnaphalium" schreibt Wagenitz im Hegi (8):

> Die Gattung Gnaphalium hat verwandtschaftliche Beziehungen zu vielen anderen Gattungen (die früher zu ihr gerechnet wurden) und nimmt zwischen ihnen eine gewisse zentrale Stellung ein.

Er fährt dann fort:

> Am schwierigsten ist die Abgrenzung gegen die Gattung Helichrysum.

Daß zwischen der Gattung Gnaphalium und Helichrysum nicht nur eine botanische Ähnlichkeit besteht, zeigt an dem speziellen Beispiel von Gnaphalium obtusifolium bzw. Helichrysum arenarium das Zitat aus dem Lehrbuch der biologischen Heilmittel von Madaus (15). In dem Kapitel wird zunächst die medizinische Anwendung von Gnaphalium obtusifolium beschrieben und später heißt es dann:

> Anstelle von Gnaphalium polycephalum (obtusifolium) kann auch die einheimische Pflanze Gnaphalium arenarium (Helichrysum arenarium) mit Erfolg angewandt werden.

Inzwischen hat man sich sehr eingehend mit den Inhaltsstoffen von Helichrysum arenarium beschäftigt und die medizinische Wirkung überprüft. Über die Inhaltsstoffe von Gnaphalium obtusifolium hingegen ist kaum etwas bekannt, obwohl die Pflanze für ein neues homöopathisches Arzneibuch (HAB) vorgeschlagen wurde (57).

Eine der letzten Arbeiten (31) über Helichrysum arenarium beschäftigte sich mit einem "Spureninhaltsstoff" aus der lipophilen Fraktion der Pflanze. Identifiziert wurde der Stoff als ein 3,5-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavon, d.h. als ein B-Ring unsubstituiertes Flavon. Die Isolierung dieses Stoffes wurde als Anlaß genommen, um darauf hinzuweisen, daß die Quantität bei der Anwendung chemischer Merkmale zur Systematisierung mit berücksichtigt werden sollte.

Diesem Hinweis folgend und um neben der botanischen Ähnlichkeit zwischen beiden Pflanzen auch eine gewisse chemische Ähnlichkeit aufzuzeigen, beschäftigt sich die vorliegende Arbeit mit der Isolierung, Charakterisierung und Identifizierung von vier Flavonoiden aus der lipophilen Fraktion der oberirdischen Teile von Gnaphalium obtusifolium (L.).

II. Botanik von Gnaphalium obtusifolium

Im Jahre 1753 beschrieb Linné zum ersten Male die Gattung Gnaphalium.
Sie umfaßt ca. 150 Arten und gehört in die Familie der Compositae (Asteraceae) und in die Ordnung der Campanulales (Asterales) (45). Es sind meist einjährige oder ausdauernde Kräuter mit wechselständigen, ganzrandigen, zumindest unterseits filzig oder wollig behaarten Blättern. Die Köpfchen sind klein, meist zahlreich in sehr verschiedenartigen Köpfchenständen, geknäuelt, doldentraubig bis doldenrispig oder ährenförmig bis rispenförmig angeordnet. Hülle ei- oder becherförmig. Hüllblätter wenigreihig, größtenteils trockenhäutig und weißlich, gelblich, rötlich oder bräunlich gefärbt. Köpfchenboden etwas flach oder etwas gewölbt, kahl, zuweilen grubig. Blüten zahlreich, klein, die äußeren (meist mehrere Reihen) weiblich, dünnröhrig, fast fädlich, die inneren (meist wenige) zwittrig, trichterförmigröhrig. Alle Blüten fertil. Griffel der weiblichen Blüten mit zur Spitze hin allmählich verbreiterten abgeflachten Ästen, diese am Ende abgerundet gestutzt, außen schwach papillös; Griffel der zwittrigen Blüten ähnlich, aber mit keulenförmigen Fegehaaren am stärker verbreiterten Ende. Antheren deutlich geschwänzt. Achänen länglich, im Querschnitt meist etwas seitlich zusammengedrückt, kahl oder durch Zwillingshaare papillös bis behaart. Pappus aus einer Reihe zarter, feinrauher Borsten, diese am Grunde frei oder schwach ringförmig verwachsen. (Hegi 1965) (8).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit interessiert eine Art aus der Gattung Gnaphalium, die von Linné als Gnaphalium obtusifolium und von Michaux als Gnaphalium polycephalum bezeichnet wurde. Es handelt sich um ein 70 cm bis 1 m großes einjähriges Kraut. Die Blüten sind traubig an der Spitze der Zweige angeordnet. Die Blätter sind ungestielt, eng anliegend und zugespitzt. Sie kommt in Nordamerika vor, hauptsächlich in Quebec, Manitoba, Florida und Texas, und blüht auf trockenen Feldern, am Waldrand und Straßenrändern von August bis November (7).

Als wichtigstes Unterscheidungsmerkmal zwischen der Gattung Gnaphalium und Helichrysum gilt das Zahlenverhältnis der weiblichen und zwittrigen Blüten eines Köpfchens. Bei Helichrysum ist die Zahl der zwittrigen Blüten größer als die der weiblichen, während es sich bei Gnaphalium gewöhnlich umgekehrt verhält. Ansonsten unterscheidet sich die Mehrzahl der Gnaphaliumarten im Gesamthabitus durch die unscheinbareren und in traubigen Köpfchenständen angeordneten Köpfchen sehr deutlich von Helichrysum.

Von den beiden Gattungen ist Helichrysum, und hier wiederum die Art Helichrysum arenarium, chemisch am besten untersucht. Der Grund dafür liegt möglicherweise in der Tatsache, daß Helichrysum arenarium die Stammpflanze für die früher offizinelle Droge "Flores Stoechadis citrinae" ist (8).

III. Allgemeines über Gnaphalium obtusifolium und bisherige Untersuchungen der Pflanze

In dem Lehrbuch der biologischen Heilmittel von Madaus (15), findet man einige Angaben über die medizinische Verwendung der Pflanze.

So soll Gnaphalium obtusifolium, nach McGeorge, bei den Negern ein Allheilmittel gewesen sein.
Woodburg und Raue spezifizierten die Wirkung und empfahlen es als Mittel gegen arthritische Schmerzen in den Zehen und gegen Ischias (15). Ebenfalls gegen Ischias empfahlen es Stauffer und Hyghes-Donner (15).

Smythe (14) gab 1890 als Inhaltsstoff eine aromatische Substanz an.

Erst im Jahre 1938 berichtete Jannke (9) über eine umfangreichere phytochemische Analyse von Gnaphalium obtusifolium. Auch er gab an, daß die Pflanze den Ureinwohnern und frühen Einwanderern als Allheilmittel gedient hat.
Für seine Untersuchungen extrahierte er die oberirdischen Teile der Pflanze, die er aus Madison (Wisconsin) bekommen hatte, zunächst mit Petroläther, dann mit Äther, Chloroform, Äthanol, 0,5%iger heißer Alkali, 0,5%iger heißer HCl. Er beschreibt die Extrakte und erwähnt einige Derivate und Farbreaktionen, konnte jedoch bis auf die Schmelzpunkte keine genaueren Angaben über die isolierten Substanzen machen. Allerdings beschreibt er eine farblose Substanz, die er aus dem Petrolätherextrakt der Blüten isolierte. Nach dem Umkristallisieren aus Aceton schmolz sie bei 202-204°. Möglicherweise handelte es sich damals um den gleichen Stoff, den wir in dieser Arbeit mit Gn_{125} benennen. Der Schmelzpunkt meiner Substanz lag bei 202-206°.

Bohlmann und Mitarb. (10) isolierten 1966 aus den Wurzeln von Gnaphalium obtusifolium drei Enolätherpolyine.

IV. Spektroskopische Methoden zur Strukturaufklärung von Flavonen, Flavonolen und Flavanonen

1. UV-Spektroskopie

Unter den zur Zeit gebräuchlichen spektroskopischen Untersuchungsmethoden ist die UV-Spektroskopie die älteste. Auf dem Flavonoidgebiet gehört sie, wegen der charakteristischen UV-Spektren dieser Stoffe, zum festen Bestandteil der Analyse.

Das Spektrum des Flavons hat zwei charakteristische Absorptionsbanden. Bande I liegt bei 297,5 nm und Bande II bei 250 nm (7). Je nach Struktur der Verbindungen ändern die Absorptionsbereiche ihre Lage und ihre Intensität. Verändert man zum Beispiel den Pyronring, d.h. überführt

man das Flavon in das Flavanon, so sinkt die Extinktion beider Banden deutlich ab und die Bande I wird bathochrom verschoben (17,18).
Führt man OH-Gruppen in das Flavon ein, so ändert man auch damit das Spektrum. Hierbei ist jedoch zu beachten, an welche Stelle und in welchen Ring die OH-Gruppe eingeführt wird.

1.1. Die Auswirkung der Hydroxylierung auf das Grundspektrum (17,22,36,37):

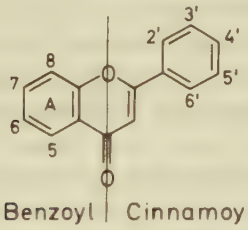


Abb. 1

1.1.1. Bei Flavonen

Um die Veränderungen des Flavongrundspektrums besser schematisieren zu können, hat Jurd 1962 das Flavongrundgerüst in zwei Systeme geteilt und der Bande II das Benzoylsystem des Ringes A, der Bande I das Cinnamoylsystem des Ringes B zugeordnet (s.Abb.1). Grund für diese Schematisierung findet man in den Spektren der A-Ring hydroxylierten aber B-Ring unsubstituierten Flavone, die eine ausgeprägte Bande II zeigen, während die langwellige Bande I nur eine schwache Intensität aufweist. Bei den A- und B-Ring hydroxylierten Flavonen dagegen hat die Bande I eine höhere Extinktion und ist bathochrom verschoben. Markante Effekte bewirken die Einführung einer OH-Gruppe in 3,4'- oder 5-Stellung. Das 3-Hydroxyflavon zeigt eine bemerkenswerte bathochrome Verschiebung der Bande I und ein zusätzliches Auftreten einer Bande bei 307 nm. Eine OH-Gruppe in 4'-Stellung hat ebenfalls eine bathochrome Verschiebung der Bande I zur Folge, diese Verschiebung ist

jedoch geringer. Dagegen ist die Intensität der Bande I im Verhältnis zur Bande II ausgeprägter als beim 3-Hydroxyflavon.
Die Einführung einer OH-Gruppe in die 5-Stellung bewirkt eine bathochrome Verschiebung beider Banden, wobei die Bande I stark an Itensität gegenüber der Bande I von 3- und 4'-Hydroxyflavonen verliert. Außerdem tritt noch eine Infelxion bei 300 nm auf. Eine OH-Gruppe in Stellung 6 oder 8 im A-Ring bewirkt eine bathochrome Verschiebung der Bande II.
Die Einführung mehrerer OH-Gruppen in den Flavonring vergrößert den auxochromen Effekt, d.h. bis zu einem gewissen Grad sind die Spektralwirkungen, welche die einzelnen OH-Gruppen in ihren verschiedenen Stellungen hervorrufen, additiv.
Im Prinzip gelten die beschriebenen Effekte auch für die Flavonolderivate. Nur muß man bei diesen Betrachtungen dann das Flavonolgerüst zugrunde legen.

1.1.2. Bei Flavanonen (17,18,37)

Wegen des hydrierten Pyronringes besteht im Flavanon keine Konjugation mehr zwischen B-Ring und Carbonylgruppe am C-4. Die Hauptabsorptionsbande (Bande II) liegt bei 270-295 nm. Aus diesem Grunde wirkt sich die Einführung von OH-Gruppen im B-Ring nicht wesentlich auf das Spektrum aus. Im A-Ring dagegen bewirkt eine OH-Gruppe eine mehr oder weniger stark ausgeprägte bathochrome Verschiebung.

1.2. Die Veränderung des Spektrums durch Verätherung und Acetylierung der OH-Gruppen (17,37)

Eine Verätherung der OH-Gruppen in den Stellungen 5,6,7, 2',3' bei den Oxyflavonen ändert das Spektrum kaum. Einen wesentlich größeren Einfluß hat dagegen die Verätherung der OH-Gruppe in Stellung 4' des Flavongerüstes. Ebenso wie bei dem 3-Äther wird dabei die langwellige Bande I hypsochrom verschoben und gleichzeitig der Extinktionsgrad erniedrigt.

Einen bemerkenswerten Effekt erzielt man durch Acetylieren. Dabei verlieren nämlich die OH-Gruppen ihren auxochromen Charakter und das Spektrum wird auf das des Grundkörpers reduziert.
Eine Ausnahme jedoch ist das Spektrum des 3-Acetoxyflavons. Dieses Spektrum hat drei Absorptionsmaxima, bei 348 nm, 305 nm und 242 nm. Ähnliche Veränderungen findet man bei den entsprechenden Derivaten.

1.3. Einige Methoden zur Substitutionsbestimmung (36,37,40,41)

1.3.1. 4'-Hydroxyflavone bestimmt durch Natriummethylat

Die Zugabe von Natriummethylat zu einer methanolischen Lösung eines 4'-Hydroxyflavons bewirkt eine bathochrome Verschiebung der Bande I um 45-65 nm bei gleicher Bandenintensität. Ebenfalls eine bathochrome Verschiebung um 50-60 nm, aber mit einem hypochromen Effekt, weist ein 3-Hydroxyflavon unter gleichen Bedingungen auf. Ein 3,4'-Dihydroxyflavon zersetzt sich unter diesen Bedingungen, ebenso wie ein 3,3',4'-Trihydroxyflavon.
Ähnliche Zersetzungserscheinungen im stark alkalischen Milieu zeigen auch Flavone mit OH-Gruppen in 5,6,7 und 5,7,8 sowie in 3',4',5'-Stellung.

1.3.2. 7-Hydroxyflavone durch Natriumacetat

Die schwächere Base Natriumacetat ist ein sehr gutes Reagenz, um eine freie OH-Gruppe in 7-Stellung zu identifizieren. In einem solchen Falle wird die Absorptionsbande im kurzwelligen Bereich um ca. 5-20 nm bathochrom verschoben. Farkas u. Mitarb. sowie Lee u. Mitarb. haben jedoch festgestellt, daß bei einigen im A-Ring hochsubstituierten Flavonen die Bande II nicht bathochrom verschoben wurde, obwohl eine 7- OH-Gruppe vorlag (4,19,20).

1.3.3. o-Dihydroxygruppierung durch Natriumacetat/Borsäure

o-Dihydroxygruppierungen - ausgenommen ist die 5,6-Gruppierung - lassen sich in Flavonen und Flavonolen ein-

wandfrei bestimmen. In Gegenwart von Natriumacetat bildet sich nämlich leicht ein Borkomplex zwischen den beiden benachbarten Hydroxylgruppen aus. Im Falle einer o-Dihydroxygruppierung im B-Ring wird dabei die langwellige Bande I um ca. 12-30 nm bathochrom verschoben.

1.3.4. 3,5-Hydroxyflavone durch Aluminiumchlorid

Sowohl 5-Hydroxyflavone als auch 3,5-Dihydroxyflavone geben gelbe Komplexe mit Aluminiumchlorid. Diese Komplexbildung (16) zeigt sich in der bathochromen Verschiebung der Bande I und II im Spektrum. Jede der beiden Banden hat zwei getrennte Maxima oder Inflexionen. Die bathochrome Verschiebung der Bande I eines Flavons zu der Komplexbande I a beträgt 20-45 nm.
Die Bande I im Spektrum des Aluminiumkomplexes bei einem Flavonol wird ca. 60 nm bathochrom verschoben.
Hierbei muß jedoch betont werden, daß sich die genannten Werte für die Verschiebungen auf Messungen im äthanolischen Milieu beziehen. Es wurde nämlich festgestellt, daß diese Werte verfälscht werden, wenn man in methanolischen Lösungen mißt und außer einer 3,5-Dihydroxygruppierung noch eine3',4'-Gruppierung vorliegt. In diesen Fällen haben sich die Werte wesentlich erhöht, da sich zwischen den OH-Gruppen in 3',4'-Stellung ein zusätzlicher Aluminiumkomplex ausgebildet hat. Messungen in Äthanol zeigen diese Erscheinung nicht.
Sollte es sich aber nicht umgehen lassen, in Methanol zu messen, so kann man durch Zugabe von verdünnter Salzsäure den Aluminiumkomplex zwischen einer 3',4'-Dihydroxygruppierung zerstören. Der Komplex zwischen 5- bzw. 3-OH und Carbonylgruppe bleibt dabei jedoch stabil.

1.3.5. Die Anwendung dieser Methoden bei Flavanonen

Die gleichen Methoden können auch bei den Flavanonen angewandt werden. So wird die Hauptabsorptionsbande nach Zugabe von wasserfreiem Natriumacetat um ca. 35 nm bathochrom verschoben, wenn eine freie OH-Gruppe in 7-Stellung vorliegt. Um 20-30 nm wird das Maximum eines 5-Hydroxy-

flavanons bathochrom verschoben, wenn eine äthanolische Aluminiumchloridlösung der Probelösung hinzugefügt wird.

Ein 4'-OH-7-Alkoxyflavanon (18) läßt sich gut durch Zusatz von verdünnter Natronlauge (1 Tropfen 1% NaOH in eine 2,5 ml Küvette) bestimmen. Die Alkalisierung bewirkt eine Umlagerung in das Chalkon und liefert ein breites Maximum in der 400-450 nm Region.

2. IR-Spektroskopie

Empirisch wurde festgestellt, daß das Auftreten bestimmter Absorptionsbanden in einem Infrarotspektrum für die Anwesenheit bestimmter Atomgruppierungen im Molekül charakteristisch ist. Diese Beobachtung ist die Grundlage für die Anwendung infrarotspektroskopischer Untersuchungen zur Konstitutionsaufklärung chemischer Verbindungen. Tritt im Infrarotspektrum einer unbekannten Substanz eine solche charakteristische Gruppenfrequenz auf, so kann man mit großer Wahrscheinlichkeit auf die Anwesenheit der ihr entsprechenden Atomgruppierung im Molekül schließen. Außerdem gestattet die Lage der Gruppenfrequenz sehr oft Aussagen über die nähere Umgebung der sie verursachenden Gruppierung. (Nachbargruppeneffekte, Konjugation, Wasserstoffbrückenbindung).
Betrachtet man auf dieser Grundlage die Spektren der Flavone und Flavanole, so findet man in dem Bereich 1400 cm^{-1} bis 1620 cm^{-1} (12) viele Ähnlichkeiten, die auf den aromatischen Charakter dieser Substanzen zurückgeführt werden müssen.
Eine genaue Zuordnung der Absorptionsbanden ist in diesem Bereich jedoch nicht möglich, da die Skelett- und Streckschwingungen des Pyronsystems in dem gleichen Gebiet absorbieren.
Besser zuordnen lassen sich dagegen die Absorptionsbanden zwischen 650 cm^{-1} und 800 cm^{-1}. In diesem Gebiet erscheinen die Ringdeformationsschwingungen, die Auskunft über das Substitutionsmuster geben (12,13). Ist der B-Ring zum Beispiel unsubstituiert, so tritt bei 773±5 cm^{-1} und

691 ± 13 cm^{-1} je eine C-H Deformationsschwingung auf. Sie sind weitgehend von der Natur des Substituenten unabhängig und für Flavone und Flavanone gleich.
Von allen Absorptionsbanden ist jedoch die Carbonylgruppe die charakteristische bei den Flavonoiden. Die Lage dieser Bande (11,12,13) läßt auch gewisse Schlüsse auf die Substitution zu. So wurde z.B. festgestellt, daß 5-Hydroxyflavanone eine Verminderung der Carbonylfrequenz um 40 cm^{-1} zeigt. Diese Erscheinung (3) erklärt man mit der Ausbildung eines sechsgliedrigen Chelatringes.
Demgegenüber erfährt die Carbonylbande des 5-Hydroxyflavons (3) keine Frequenzverschiebung, obwohl auch hier durch Wasserstoffbrückenbildung ein 6-Ring-Chelat ausgebildet werden kann. Ebenfalls eine noch nicht ganz geklärte Tatsache bleibt die Verminderung der Carbonylfrequenz bei dem 3-Hydroxyflavon; denn hier kann sich nur ein weniger stabiles 5-Ring-Chelat durch eine Wasserstoffbrücke ausbilden. In einem 3,5-Dihydroxyflavon bleibt demnach die Carbonylabsorption unbeeinflußt. Ein Zeichen, daß der 6-Ring-Chelat zwischen 5-OH und Carbonylgruppe tatsächlich stabiler ist.

2.1. Die Carbonylbande bei Flavanonen

Ähnliche Bandenverschiebungen wie das 5-Hydroxyflavanon zeigt das 7-Hydroxyderivat.
Bei einem 5,7-Dihydroxyflavanon erhöht sich die Frequenzverminderung der Carbonylgruppe, d.h. die beiden Effekte addieren sich in etwa. Die Werte liegen zwischen 1645 bis 1629 cm^{-1}, das entspricht einer Verschiebung gegenüber der Carbonylbande des unsubstituierten Flavanons um 35-51 cm^{-1} (1). Da der B-Ring bei Flavanonen nicht in Konjugation zur Carbonylgruppe steht, läßt sich eine Frequenzänderung der Carbonylbande durch Dihydroxysubstitution in 3',4'-Stellung nicht durch einfache Mesomerie erklären. Hergert und Kurth (11) haben bei solchen Derivaten Verminderungen der Carbonylfrequenzen um ca. 15 cm^{-1} gemessen und erklären dieses Phänomen mit einer Ausbildung von intermolekularen H-Brückenbindungen. Durch Acetylierung kann die Wasser-

stoffbrückenbindung wieder rückgängig gemacht werden, so daß die Carbonylgruppe wieder bei 1680 cm^{-1} absorbiert. Briggs und Colebrock (1) konnten bei ihren Messungen mit 3',4'-Flavanonen keine Frequenzverminderung der Carbonylbande feststellen. Sie fanden im Gegenteil eine geringfügige Erhöhung der Frequenz. Trotz dieser Unterschiede konnten auch sie nach der Methylierung einer OH-Gruppe im B-Ring eine Verschiebung der Carbonylbande zu höheren Wellenzahlen messen. Ein Effekt, der auch nach ihrer Meinung auf eine Erniedrigung der Wasserstoffbrückenbindung zurückzuführen ist.
Eine direkte Aussage über die Stellung der OH-Gruppen findet man in dem Bereich von 3000-3500 cm^{-1}. Die OH-Gruppen im B-Ring z.B. absorbieren zwischen 3450 und 3280 cm^{-1} (1).

2.2. Die Carbonylbande bei Flavonen

Wie schon erwähnt, verschiebt sich die Carbonylfrequenz eines 5-Hydroxyflavons kaum. 5-Acetoxyflavone sowie 5-Methoxyflavone dagegen zeigen eine Frequenzverminderung der Carbonylbande. Als mittleren Wert geben Briggs und Colebrock (1) für 5-Methoxyflavone 1629 cm^{-1} an. Nur bei 5,6,7,8-Tetramethoxyflavon haben sie Carbonylabsorptionen bei 1650-1645 cm^{-1} gemessen.
Wird in die 6-Stellung eines Flavons eine Methyl-, Methoxyl- oder Hydroxylgruppe eingeführt, so wird die Frequenz der Carbonylgruppe mehr oder weniger stark zu niedriger Wellenzahl verschoben.
Über den Einfluß einer Methoxygruppe in 7-Stellung gibt es unterschiedliche Meinungen. Während Shaw und Simpson (2) eine Frequenzerniedrigung der Carbonylbande bei Flavonen und Flavonolen nach Einführung einer 7-Methoxygruppe gemessen haben, fanden Briggs und Colebrock (1) bei ihren Messungen eine Erhöhung der Carbonylfrequenz. Die Einführung einer 7-Hydroxygruppe in ein unsubstituiertes Flavon bewirkt nach Locker und Hanneman (12) eine Frequenzverminderung der Carbonylbande.
Die 8-Stellung übt einen weniger ausgeprägten Einfluß auf

die Carbonylabsorption aus. Denn zwischen der 8-Stellung und der Carbonylgruppe kann sich keine Konjugation ausbilden. Eine Substitution in 8-Stellung und die damit verbundene Erhöhung oder Erniedrigung der Carbonylfrequenz ist deshalb nicht mit einer Resonanzvorstellung zu erklären. Die Einführung einer Hydroxylgruppe in 3-Stellung eines unsubstituierten Flavons bewirkt nach Locker und Hanneman (12) eine Verschiebung der Lage zu niedrigeren Wellenzahlen. Zu dem gleichen Ergebnis kam auch Wagner (13). Der Einfluß von Substituenten im B-Ring ist nach Shaw und Simpson (3) nicht sehr groß. Informationen über die Lage der Hydroxylgruppen erhält man aus dem Gebiet von 2500-3500 cm^{-1}. Es ist jedoch relativ schwer, eine genaue Zuordnung zu treffen.
Bei den erwähnten Messungen zeigte sich, daß die Carbonylfrequenz stark medium-abhängig ist (1). So erscheint die Carbonylbande des Flavons und des 5-Hydroxy-7-methoxyflavons in KBr gemessen bei höherer Wellenzahl als in Lösung von unpolarem Lösungsmittel (CCl_4).

3. Kernresonanzspektroskopie

3.1. Allgemeines

Ein Kernresonanzspektrum gibt Auskunft über die Anzahl und Art der verschiedenen Gruppen im Molekül, die Art ihrer Verknüpfung und ihre räumliche Anordnung. Dabei ist es manchmal notwendig, Einfluß von Lösungsmitteln, Temperatur, Konzentration, sowie von bekannten Gruppen, welche die Elektronenverteilung beeinflussen können, auf das Spektrum zu untersuchen. In sehr vielen Fällen lassen sich jedoch die Kernresonanzspektren nur durch einen Vergleich mit denen anderer Verbindungen, d.h. empirisch deuten.
In der Kernresonanzspektroskopie der Flavonoide arbeitet man viel mit Methyl- bzw. Acetylderivaten unbekannter Substanzen, um genauere Aussagen über das Substitutionsmuster zu erlangen. Der Grund dafür liegt zweifellos in der Fähigkeit dieser Gruppen, das Elektronensystem des Flavonoidgrundgerüstes so zu verändern, daß Resonanz-

verschiebungen gegenüber der nicht behandelten Substanz stattfinden. Die Art und die Größe der Verschiebung können dann Auskunft über die Art und die Stellung der Substituenten geben.
Das äußere Erscheinungsbild eines einfachen Flavonspektrums ist relativ klar. Die Signale für die Methoxylprotonen erscheinen zwischen 3,7-4,1 ppm, die der Acetoxylprotonen in dem Gebiet von 1,65-2,5 ppm. Zwischen 5,8 ppm und 6,8 ppm finden sich die Protonen des Ringes A, während die B-Ringprotonen ungefähr bei 6,7-7,9 ppm absorbieren. Das Signal der OH am C-5 findet man meistens bei 11-12 ppm, bedingt durch eine Chelatisierung mit der Carbonylgruppe am C-4. Die Bande für eine OH-Gruppe in C-3-Stellung ist ebenfalls aufgrund einer Chelatbildung mit der C-4 Carbonylgruppe nach tieferem Feld verschoben. Bei allen genannten Signalen ist jedoch zu beachten, daß sie lösungsmittelabhängig sind. Dies trifft vor allen Dingen bei den Banden der OH-Gruppen zu.
Das olefinische Proton im Ring C erscheint m eistens bei 6,8 ppm, wenn eine normale Struktur vorliegt. Das Signal ist sehr stark abhängig von der Substitution im A- und B-Ring. So bewirken elektronenliefernde Gruppen eine Abschirmung, d.h. eine Verschiebung des Signals zu höherem Feld, elektronenziehende Gruppen dagegen verschieben die Resonanzfrequenz zu niedrigerem Feld.
Demgegenüber zeigt das Flavanonspektrum folgende Charakteristika. Die Protonen des C-Ringes bilden ein ABX-System (23). Der AB-Teil dieses Systems besteht aus 8 Linien und der X-Teil aus 6 Linien, wobei die beiden äußeren Linien des X-Teiles von gemischten Übergängen herrühren und wegen der geringen Intensität oft im "Rauschen" verschwinden. Man findet bei im B-Ring unsubstituierten Flavanonen ein Singulett mit der Intensität von fünf Protonen bei ca. 7,5 ppm.

Es gibt verschiedene Möglichkeiten, um sich Klarheit über die Stellung der Protonen im Flavon bzw. Flavanon zu verschaffen.
Einmal hat sich inzwischen ein unfangreiches Datenmaterial angesammelt, so daß es in manchen Fällen ausreicht, die

gefundenen Werte mit den bereits gemessenen Werten zu vergleichen, zum anderen sind Methoden bekannt, mit denen es möglich ist, die Stellung der einzelnen Protonen und damit das Substitutionsmuster festzulegen.

3.2. Einfluß einer Acetoxygruppe auf die chemische Verschiebung der Protonen (24)

Betrachtet werden soll der Fall, bei dem eine Acetoxygruppe zusätzlich in das Ringsystem eingeführt wird. Massicot und Mitarb. (24) untersuchten das Problem sehr eingehend. Sie stellten fest, daß eine Acetoxygruppe das Proton in o-Stellung zu höherem Feld verschiebt, d.h. es unterliegt einer stärkeren Abschirmung als das Proton in p-Stellung. Demgegenüber wird das Proton in m-Stellung zu niedrigerem Feld verschoben, d.h. es wird entschirmt. Für die Verschiebung werden folgende Werte angegeben:

von - 0,23 ppm bis - 0,35 ppm ortho-Stellung
von + 0,02 ppm bis + 0,11 ppm meta -Stellung
von - 0,02 ppm bis - 0,15 ppm para -Stellung

Der Effekt ist unabhängig davon, ob es sich um den A-Ring oder den B-Ring handelt. Die Auswirkung auf den jeweiligen anderen Ring ist nur gering. Eine 5-Acetoxylgruppe bewirkt eine Verminderung der chemischen Verschiebung des H-3 im Flavongerüst um 0,1-0,12 ppm. Eine Acetoxygruppe in Stellung 8 verschiebt die Resonanzfrequenz der Protonen in 2',6'-Stellung stärker zu höherem Feld als die Protonen in 3',4',5'-Stellung.
Befinden sich zwei Acetoxygruppen in o-Stellung zueinander, so wird der Einfluß auf die benachbarten Protonen herabgesetzt.
Massicot und Mitarb. geben für diesen Fall folgende Werte an:

von - 0,07 ppm bis - 0,15 ppm ortho-Stellung
von + 0,03 ppm bis + 0,16 ppm meta -Stellung
von - 0,10 ppm bis - 0,14 ppm para -Stellung

3.3. Veränderung der chemischen Verschiebung nach dem Austausch der Methoxygruppe durch eine Acetoxygruppe (24)

Vergleicht man nun das Spektrum eines Methylderivates mit dem Spektrum des entsprechenden Acetylderivates, so stellt man fest, daß sich die Protonen in o-, m- und p-Stellung zu niedrigerem Feld verschoben haben, d.h. durch die Einführung der Acetoxygruppe werden die Protonen gegenüber der Methoxygruppe stärker entschirmt und erscheinen bei höheren δ-Werten. Sie werden um folgende Werte verschoben:

von + 0,18 ppm bis + 0,53 ppm ortho-Protonen
von + 0,02 ppm bis + 0,18 ppm meta -Protonen
von + 0,31 ppm bis + 0,32 ppm para -Protonen

3.4. Die chemische Verschiebung der H-6 und H-8 nach Acetylierung der 5-OH-Gruppe (24,37,48)

Vergleicht man die chemischen Verschiebungen der H-6 und H-8 vor und nach der Acetylierung einer 5-OH-Gruppe, so stellt man fest, daß H-6 nach der Acetylierung um 0,22 bis 0,29 ppm zu niedrigerem Feld verschoben werden kann, während die δ-Werte für H-8 sogar um 0,33 bis 0,49 ppm erhöht werden.
Die Auswirkung einer acetylierten 5-OH zeigt sich bei dem H-3 in einer Erniedrigung der chemischen Verschiebung um 0,03 bis 0,1 ppm.
Dieser Effekt, d.h. die Verschiebung der Protonen am C-6 und C-8 zu niedrigerem Feld nach der Acetylierung einer 5-OH-Gruppe, verglichen mit dem Effekt, der bei dem Austausch einer Methoxylgruppe durch eine Acetoxygruppe bewirkt wird, zeigt, daß in beiden Fällen eine Verschiebung zu niedrigerem Feld erreicht wird. Eine Methoxygruppe in 5-Stellung und eine freie 5-OH-Gruppe üben demnach einen ähnlich abschirmenden Einfluß auf die Protonen in dem jeweiligen Ringsystem des Flavons aus.

3.5. Unterscheidung zwischen H-6, H-8 und H-3 bei Flavonen durch Trimethylsilyläther (35,37)

Bei einer anderen Methode, die 3 Protonen voneinander zu unterscheiden, vergleicht man das Spektrum des völlig

durchsilylierten Präparaten mit dem entsprechenden Derivat, bei dem die C-5 OH-Gruppe frei ist. Man erkennt dabei, daß das H-3 um mindestens 0,15 ppm zu niedrigerem Feld, das H-8 um 0,15 ppm zu höherem Feld, während das H-6 um weniger als 0,05 ppm zu höherem Feld verschoben wird.

3.6. Bestimmung von o-Protonen durch Lösungsmittel-änderung (6)

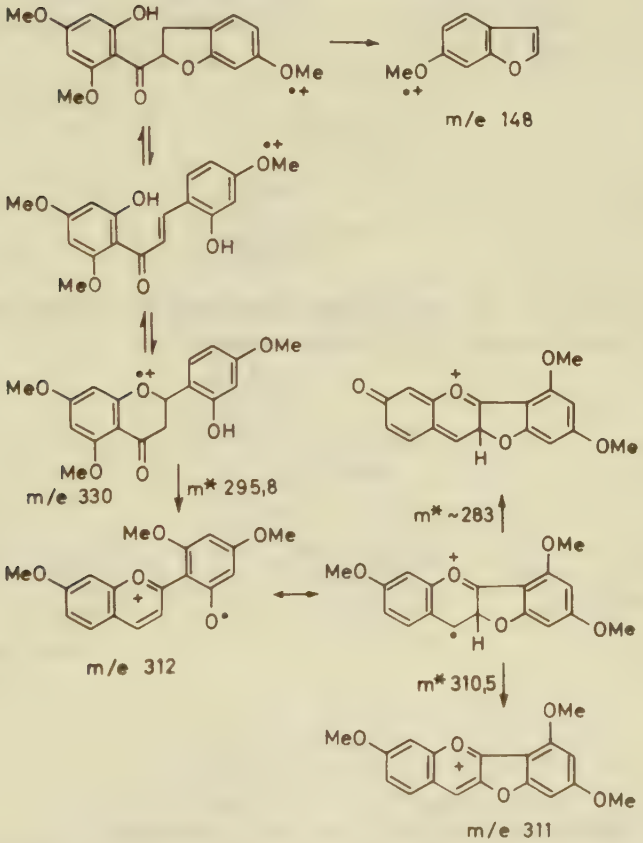
Schließlich gibt es noch eine indirekte Möglichkeit, Protonen in o-Stellung zu Methoxylgruppen zu bestimmen. Man methyliert die Substanz und nimmt ein Spektrum mit $CDCl_3$ als Lösungsmittel auf und ein anderes mit Benzol. Gegenüber dem Spektrum in $CDCl_3$ verschiebt sich das Signal der Methoxygruppe in Benzol um ca. 30-90 Hz zu höherem Feld, wenn in o-Stellung zur Methoxygruppe ein Proton ist. Ist dagegen die Methoxygruppe auf beiden Seiten durch Substituenten flankiert, so wird das Signal der Methoxygruppe nur um höchstens 20 Hz verschoben.

4. Massenspektroskopie der Flavone (5,21,42,43,44)

Die massenspektroskopischen Untersuchungsergebnisse vieler Autoren lassen sich auf einige Grundschemata der Bruchstückbildung bringen. Bei fast allen Flavonoiden findet sich eine retro-Diels-Alder-Reaktion als Grundtyp wieder. Viele 6'-Hydroxyflavonoide zeigen jedoch neben diesen üblichen Bruchstücken noch andere, die auf eine intramolekulare Reaktion zurückzuführen sind. Pelter und Mitarb. geben als Beispiele hierfür 6'-Hydroxy-4',5,7-trimethoxyflavanon und 6'-Hydroxyflavonol an. (Vergl. Schema 1 und 2)

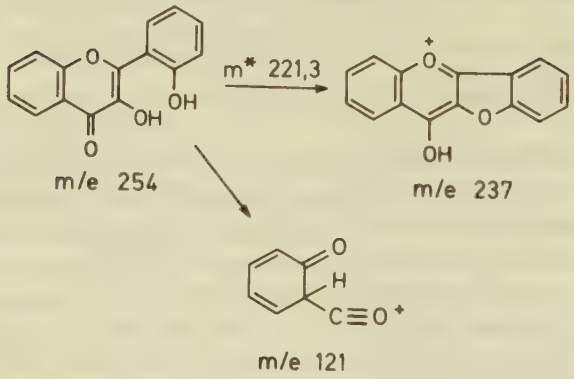
Schema 1

I. 6'-Hydroxy-4.5.7-trimethoxy-flavanon



Schema 2

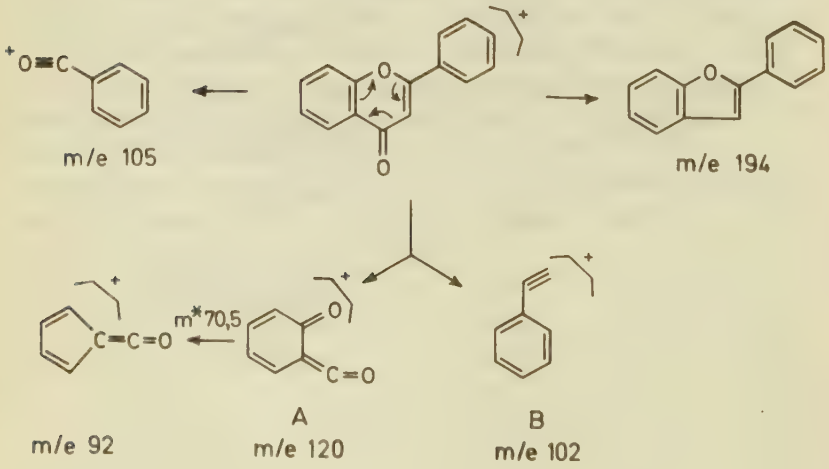
II. 6'-Hydroxy-flavonol



Das Grundschema für die Bruchstückbildung bei einem Flavon lautet nach Audier (43): (vergl. Schema 3).

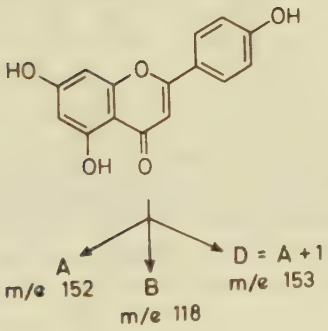
Schema 3

Flavon



Es ist noch zu bemerken, daß die Intensität der Bruchstückpeaks von dem Substitutionsmuster abhängig ist. Während z.B. bei dem im B-Ring unsubstituierten Flavon die Intensität des Bruchstückes A größer als die des Bruchstückes B ist, ist es gerade umgekehrt, wenn der B-Ring eine OCH_3-Gruppe trägt. Besitzt der B-Ring eine OH-Gruppe, wie z.B. im 5,7,4'-Trihydroxyflavon, so tritt neben dem Peak A noch ein Peak D=A+1 auf. (Vgl.Schema 4).

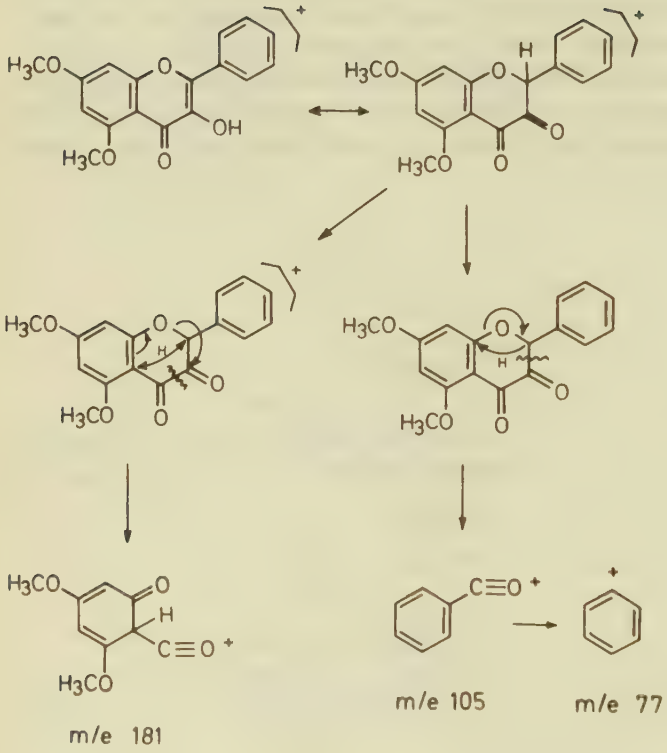
Schema 4



Bei der Bruchstückbildung der Flavonole fällt auf, daß relativ viele m/2e Bruchstücke gebildet werden. Das Grundschema gibt Audier am Beispiel des 3-Hydroxy-5,7-dimethoxyflavons wie folgt an: (vergl. Schema 5)

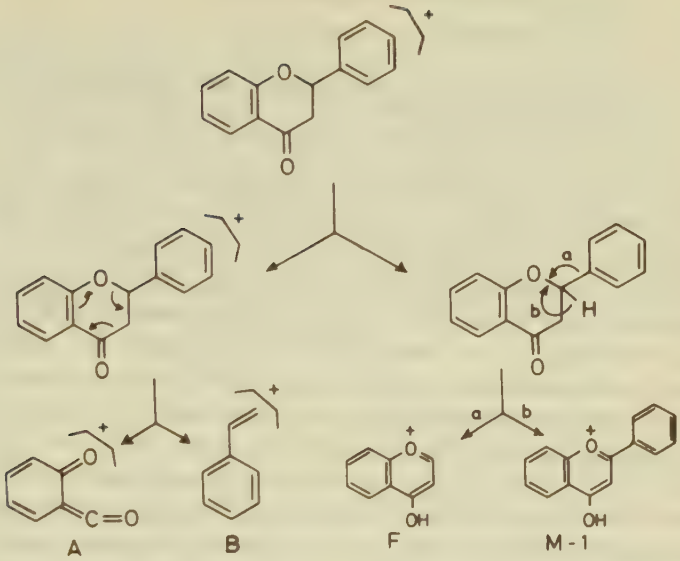
Schema 5

Flavonol



Bei den Flavanonen (42) kann die Aufspaltung des Moleküls ebenfalls nach einem retro-Diels-Alder-Mechanismus verlaufen. Dabei bilden sich die Bruchstücke A und B. Daneben kann aber auch noch ein Molekülbruch in α Stellung zum Äthersauerstoff im C-Ring unter Bildung des resonanzstabilisierten Bruchstückes F stattfinden. Das ebenfalls sehr stabile Bruchstück M-1 (43) kann entstehen, wenn der Wasserstoff in 2-Stellung herausgeschlagen wird. (Vergl. Schema 6).

Schema 6



Die bisher aufgeführten spektroskopischen Methoden zur Strukturaufklärung bzw. zur Identifizierung der Stoffklasse sind jedoch kein völliger Ersatz für chemische Verfahren. Die Kombination beider Untersuchungsweisen aber führt in den meisten Fällen zur Aufklärung eines Strukturproblems.

V. Eigene Untersuchungen

H a u p t t e i l

1. Chromatographische Bestimmung und Isolierung der Verbindungen Gn, Gn_2, Gn_3, Gn_{125} aus den oberirdischen Teilen von Gnaphalium obtusifolium

In Gnaphalium obtusifolium waren lipophile Flavone bisher nicht gefunden worden. Die Untersuchung dieser Droge hatte demnach mit der Prüfung zu beginnen, ob solche Flavone überhaupt vorhanden sind. Zu diesem Zweck wurden die oberirdischen Teile der Pflanze nach dem Zerkleinern mit Petroläther extrahiert. Der Petrolätherextrakt wurde mit 60%igem Äthanol ausgeschüttelt, um die Fette abzutrennen. Die äthanolische Ausschüttelung wurde eingeengt und mit Chloroform behandelt. Der Chloroformauszug wurde dann auf Kieselgel HF 254 (Merck) in dem Laufmittel Benzol/Aceton (9:1) chromatographiert. Anschließend wurde das Chromatogramm mit 1%iger methanolischer Eisen-III-chloridlösung angesprüht. Die Substanzen Gn_2 (R_f 0,85), Gn (R_f 0,36) und Gn_3 (R_f 0,24) färbten sich mit dem Sprühreagenz grün bis braun an, während sich die Substanz Gn_{125} (R_f 0,48) violett anfärbte. Diese 4 Substanzen sollten isoliert werden.

Arbeitsbezeichnung	R_f *)	1% methanol.$FeCl_3$
Gn_3	0,24	grün
Gn	0,36	grün
Gn_{125}	0,48	violett
Gn_2	0,85	grün

Tabelle 1

DC-Prüfung des Chloroformextraktes und Nachweis der Verbindungen Gn_3, Gn, Gn_{125}, Gn_2 auf Kieselgel HF 254 (Merck)

*) Laufmittel: Benzol/Aceton (9:1)

Zur Isolierung geeignet bot sich als naheliegend das Verfahren an, die DC-Trenntechnik in den präparativen Maßstab unmittelbar zu übertragen. Wir arbeiteten säulenchromatographisch mit Kieselgel als Adsorbens und einem Gemisch von Benzol/Aceton (95:5). Wie im Versuchsteil näher beschrieben, wurden die zusammengehörigen Fraktionen vereinigt. Aus den Stoffgemischen wurden die vier genannten Substanzen nach dem Umkristallisieren aus Methanol 80%ig bzw. Aceton in folgenden Ausbeuten erhalten:

Arbeits-bezeichnung	Ausbeute % auf luftgetrock. Droge	Schmp.	umkristall. aus
Gn_3	0,0015	193-195°	Methanol 80%ig
Gn	0,0045	174-175°	Methanol 80%ig
Gn_{125}	0,001	202-204°	Aceton
Gn_2	0,002	173-174°	Methanol 80%ig

2. Identifizierung der Verbindung Gn

2.1. Spektroskopische Methoden

Das UV-Spektrum von Gn hat einen für B-Ring unsubstituierte Flavone typischen Verlauf, d.h. Bande II ist stark ausgeprägt, während Bande I nur geringe Intensität zeigt. Die Absorptionsmaxima liegen bei den Wellenlängen: λ 238 nm ($\lg \varepsilon$ 3.92), λ 272 nm ($\lg \varepsilon$ 4.4), λ 357 nm ($\lg \varepsilon$ 3.79).
Zieht man zusätzlich zu diesen Daten die Werte der Elementaranalyse in Betracht, und berücksichtigt man chemotaxonomische Gesichtspunkte, so kann man für die Verbindung Gn ein Flavon-Grundgerüst annehmen.

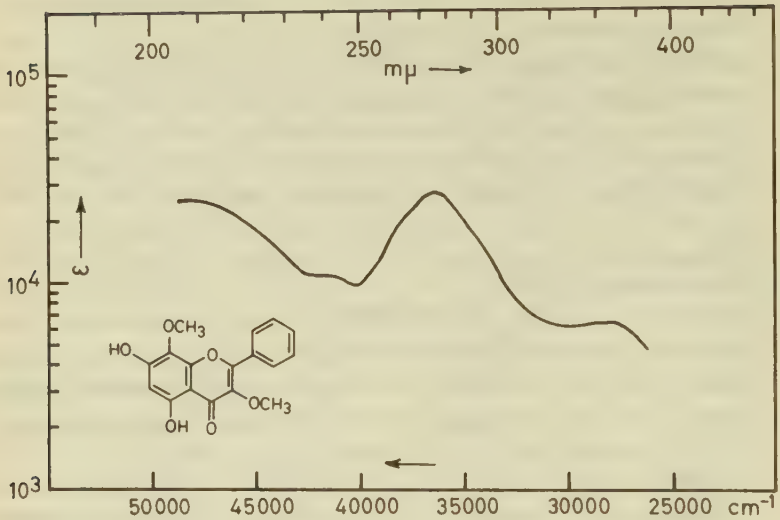


Abb. 2

UV-Spektrum der Verbindung Gn in Methanol

Dem IR-Spektrum konnten weitere Informationen über die Substanz entnommen werden, die ebenfalls darauf hindeuteten, daß es sich hier um ein Flavon handeln könnte. Die Bande bei 855 cm^{-1} ist für eine C-H-Deformationsschwingung bei 1,4 Pyronen (12) charakteristisch. Die Streckschwingungsbande bei 1319 cm^{-1} kann der C-O-C-Gruppierung zugeordnet werden. Ein weiterer Hinweis auf ein Flavon ist die Carbonylbande bei 1645 cm^{-1}. Die Banden bei 690 cm^{-1} und 775 cm^{-1} und die Banden bei 1500 und 1600 cm^{-1} zeigen den Aromatencharakter der Substanz. Die C-H-Deformationsbanden bei 690 und 775 cm^{-1} lassen außerdem noch eine Monosubstitution vermuten. Die starke Bande bei 3290 cm^{-1} deutet noch auf eine freie OH-Gruppe hin.

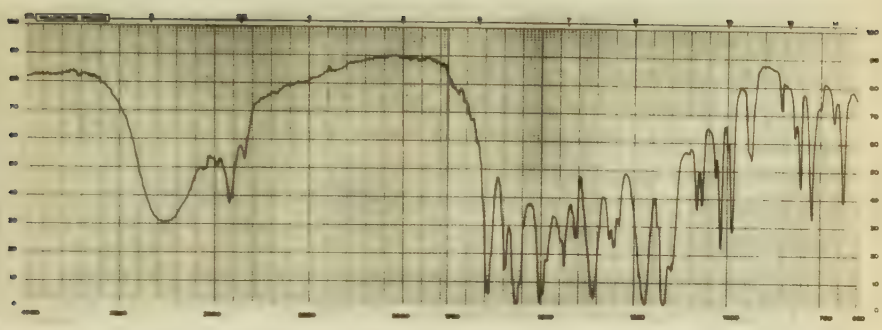


Abb. 3

IR-Spektrum der Verbindung Gn (KBr Preßling)

Mit Hilfe der Interpretation der UV- und IR-Spektren läßt sich das NMR-Spektrum folgendermaßen deuten. Die beiden Singuletts bei δ 3,9 ppm und δ 4,0 ppm zu je 3 Protonen sind aromatische OCH_3-Gruppen. Die Multipletts bei δ 7,5 ppm und δ 8,2 ppm charakterisieren ein A_2B_3-System und bestätigen

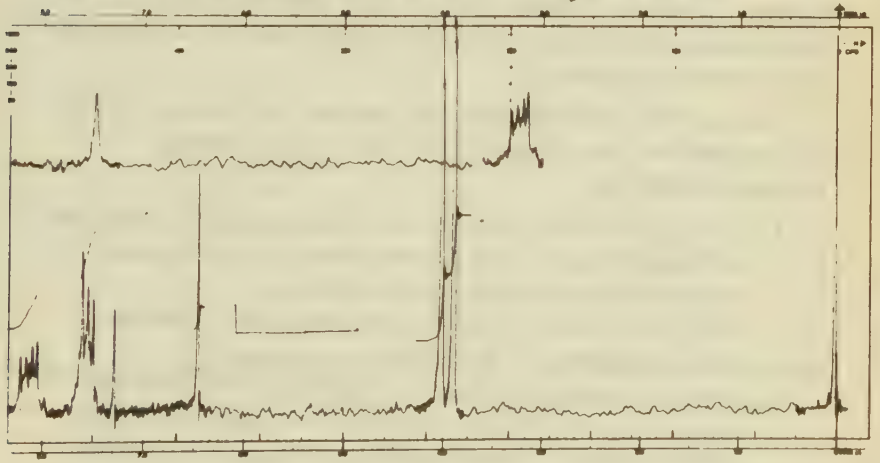


Abb. 4

60MHz-NMR-Spektrum der Verbindung Gn aufgenommen in $CDCl_3$

damit die Vermutung, daß es sich um ein im B-Ring unsubstituiertes Flavon handelt. Das Singulett bei δ 6,4 ppm ist ein aromatisches Proton. Der chemischen Verschiebung nach kann es das H-3 des Pyronringes sein oder ein Proton aus dem A-Ring. Bei δ 12,4 ppm tritt ein Singulett auf, das mit D_2O ausgetauscht werden kann. Da bei so niedrigem Feld meistens chelatisierte OH-Gruppen erscheinen, kann man annehmen, daß es sich um die 5-OH-Gruppe handelt. Die bisherige Spektrendiskussion läßt folgenden Schluß zu:

1. Die Substanz hat ein Flavongrundgerüst
2. Der B-Ring des Flavons ist unsubstituiert
3. In der Stellung 5 des A-Ringes befindet sich eine OH-Gruppe
4. Die Substanz hat außerdem noch zwei OCH_3-Gruppen und ein H

Berechnet man auf dieser Grundlage das Molekulargewicht der Substanz, so kommt man auf 298. Die Differenz zwischen dem Berechneten und dem durch die Elementaranalyse im Zusammenhang mit dem Massenspektrum bestimmten Molekulargewicht beträgt 16 m/e = 1 OH-Gruppe. Es muß also zusätzlich zu der 5-OH-Gruppe noch eine zweite Hydroxylgruppe in dem Molekül untergebracht werden.

In der UV-Spektroskopie gibt es zur Auffindung freier OH-Gruppen bei den Flavonoiden - wie schon erwähnt - folgende Methoden:

1. 5-OH, 3-OH: Nach Zugabe von alkoholischer Aluminiumchloridlösung zu der Probenlösung wird die langwellige Bande bathochrom verschoben.
2. 7-OH: Nach Zugabe von wasserfreiem Natriumacetat wird die Bande II bathochrom verschoben.
3. o-Dihydroxygruppierung: In Gegenwart von Natriumacetat bildet die Borsäure mit o-Dihydroxygruppen einen Komplex. Dadurch wird die langwellige Bande bathochrom verschoben.

Im vorliegenden Fall wurde die langwellige Bande nach Zugabe einer alkoholischen Lösung von Aluminiumchlorid zu der Probelösung um 50 nm bathochrom verschoben. Zusammen

mit der Information aus dem NMR-Spektrum ist dieser Effekt ein Beweis für eine OH-Gruppe in 5-Stellung.
Als nächstes wurde die Probelösung mit einer Lösung von wasserfreiem Natriumacetat*) versetzt. Die UV-Messungen ergaben eine bathochrome Verschiebung der Hauptabsorptionsbande um 10 nm.
Nach diesem Versuch steht fest, daß die zweite freie Hydroxylgruppe in die Stellung 7 zu setzen ist.
Zu klären bleibt jetzt lediglich noch die Zuordnung des einen Protons; denn seine Festlegung bestimmt gleichzeitig die Stellungen der beiden Methoxygruppen.
Zu diesem Zweck wird die Substanz mit Diazomethan methyliert. Dabei bleibt die Hydroxylgruppe in 5-Stellung frei und kann anschließend acetyliert werden. Von diesem 7-Methoxy-5-acetoxyderivat wird ein NMR-Spektrum in $CDCl_3$ aufgenommen (vergl. Abb.5) und mit dem Spektrum der nicht behandelten Substanz verglichen. Dabei stellte sich heraus, daß das Singulett bei 6,4 ppm um 0,25 ppm zu niedrigerem Feld verschoben war.

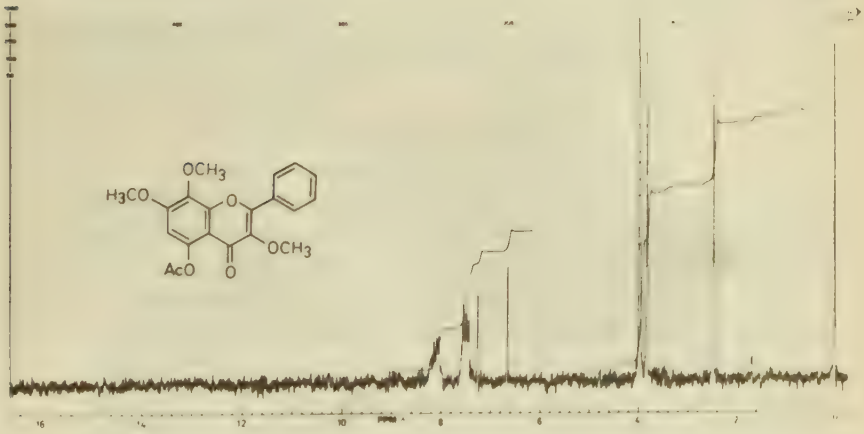


Abb. 5

60MHz-NMR-Spektrum des 3,7,8-Trimethoxy-5-acetoxyflavons in $CDCl_3$

*) Ich danke Herrn Prof. Dr. H. Wagner, München, für den Hinweis, den Versuch noch einmal zu überprüfen.

Massicot (24) hat diesen Entschirmungseffekt eingehend untersucht und Werte für die Verschiebungen angegeben. So hat er festgestellt, daß sich das Signal eines Protons in o-Stellung zu einer 5-Acetoxygruppe, d.h. in 6-Stellung also, um 0,22 ppm bis 0,29 ppm zu niedrigerem Feld verschiebt, während sich das Signal eines freien Protons in 8-Stellung um 0,33 ppm bis 0,49 ppm zu niedrigerem Feld verschieben würde.
Im vorliegenden Fall muß demnach das Singulett bei 6,4 ppm dem Proton in Stellung 6 zugeordnet werden. Damit müssen die beiden Methoxygruppen in die Stellung 3 und 8 gesetzt werden.
Um den spektroskopischen Beweis noch eindeutiger zu gestalten, wurde das Castizin (5,3'-Dihydroxy-3,4',6,7-tetramethoxyflavon) den gleichen Bedingungen unterworfen. Die Verschiebung betrug hier 0,38 ppm, d.h. das H-8 wurde durch die Acetoxygruppe in 5-Stellung stärker entschirmt.

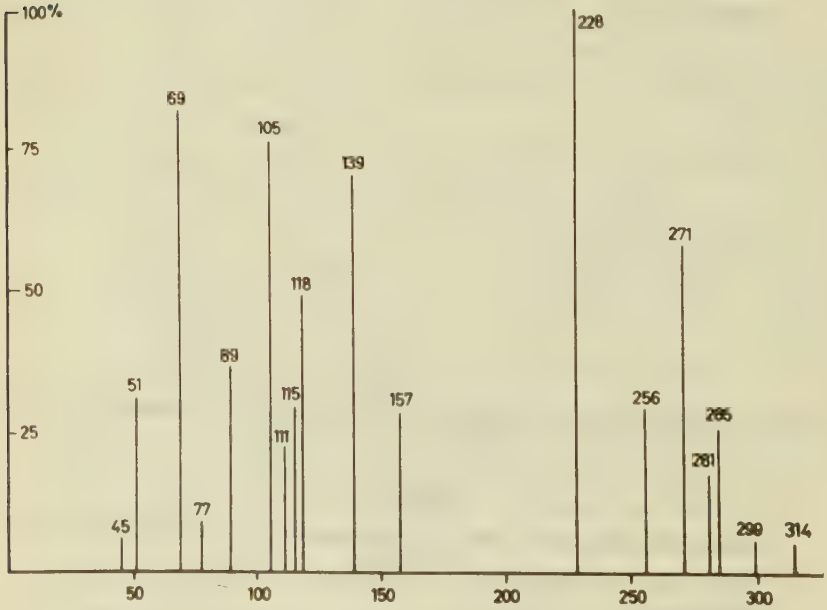


Abb. 6 : Massenspektrum des Gnaphaliins (Gn)

Aus dem Massenspektrum konnte durch die Bruchstücke von m/e = 105 (Benzoyliumion) und m/e = 77 (Phenylion) ein zusätzlicher Beweis dafür gefunden werden, daß der B-Ring unsubstituiert ist. Nach allen vorliegenden Ergebnissen der spektroskopischen Untersuchungen läßt sich ein 5,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxyflavon formulieren.

2.2. Chemischer Beweis

Den physikalisch-chemischen Beweisen für die Richtigkeit der Struktur folgten noch einige chemische Beweise. Die 5-Hydroxy-8methoxysubstitution des A-Ringes wurde durch eine p-Oxydation (30) mit 60%iger HNO_3 bestätigt. Es bildete sich dabei das um 16 m/e leichtere Chinon. Dieser Verlust wurde massenspektroskopisch nachgewiesen.
Ebenso wie die p-Oxydation, wurde die Alkalispaltung mit dem Monomethylderivat ausgeführt. Neben dem Acetophenonspaltprodukt, konnte die Benzoesäure durch CO-Chromatographie von authentischer Substanz nachgewiesen werden. Durch diese beiden Reaktionen war nun noch einmal chemisch der Beweis erbracht, daß es sich um ein Flavon des Gossypetintyps handeln muß, das im B-Ring unsubstituiert ist. Die Substanz erhielt den Namen Gnaphaliin.

3. Identifizierung der Verbindung Gn_2

3.1. Als Monomethyläther des Gnaphaliins

Bei der Strukturaufklärung dieser Verbindung kam ein glücklicher Umstand zu Hilfe, der sehr schön zeigt, wie organische Strukturen mit Hilfe von Massenspektren aufgeklärt werden können. Die Molekülpeaks in den Spektren von Gnaphaliin (Gn) und Gn_2 unterscheiden sich um die Massenzahl 14. Gn_2 enthält also nur eine CH_3-Gruppe mehr als Gnaphaliin. Beide Massenspektren enthalten Bruchstücke der Masse 105 und 77. Die Bruchstücke gehen auf gleichartige Spaltungen des B-Ringes zurück, d.h. bei Gnaphaliin wie bei Gn_2 ist der B-Ring unsubstituiert.
Die Werte der Elementaranalyse (C 65,79; H 5,28) und das Molekulargewicht aus dem Massenspektrum (328) ergeben die Summenformel $C_{18}H_{16}O_6$.

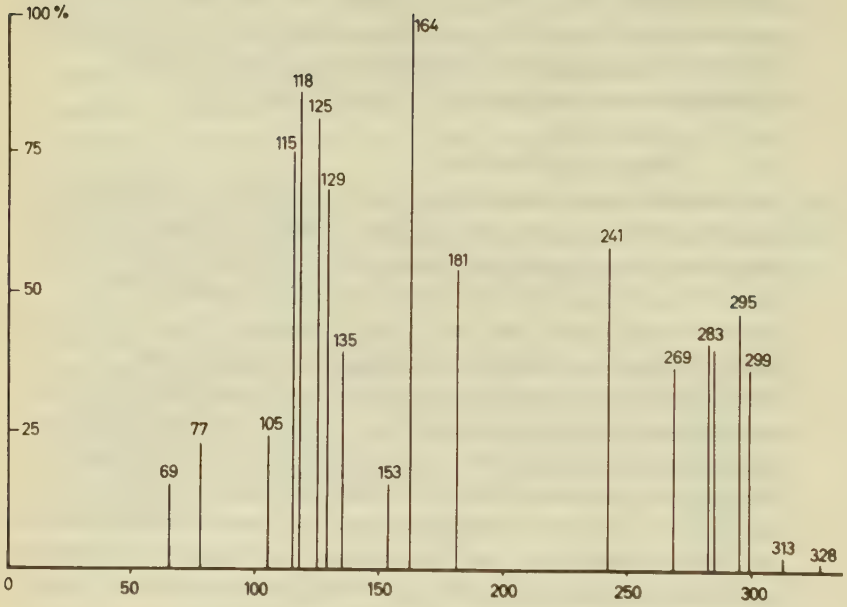


Abb. 7

Massenspektrum von Gn_2

Schon nach diesen Fakten läßt sich die Arbeitshypothese aufstellen, daß es sich bei dieser Substanz um ein Monomethylderivat des Gnaphaliins handeln könnte. Als nächstes wurde deshalb das Gnaphaliin mit Diazomethan in den Monomethyläther überführt und dann in drei verschiedenen Systemen mit Gn_2 chromatographisch verglichen. In allen drei Systemen (Benzol/Dioxan/Essigsäure 90/25/4; Benzol/Essigester 70/30; auf Perlon Benzol/Methanol/Wasser 30/60/10) entsprachen sich die R_f-Werte (s.Tabelle 2).

	R_f			$FeCl_3$
	I	II	III	1% methanol.
Gn_2	0,91	0,94	0,62	grün
Gn-monomethyl-äther	0,91	0,94	0,62	grün

Tabelle 2

Vergleichschromatographie des natürlichen Gn_2 mit dem Gn-monomethyläther

Adsorbens: (I), (II) Kieselgel R_f 254, Merck
(III) Perlon

Laufmittel: (I) Benzol/Dioxan/Eisessig (90:23:4 v/v)
(II) Benzol/Essigester (70:30 v/v)
(III) Benzol/Methanol/H_2O (30:60:10 v/v)

Um noch die letzten Zweifel an einer Identität der beiden Substanzen zu zerstreuen, wurden eutektische Schmelzpunkte mit Phenacetin und Benzanilid von beiden Substanzen durchgeführt (s. Tabelle 3).

Eutektika:

Verbindung Gn_2 + Phenacetin	: 129°
Verbindung Gn-monomethyläther + Phenacetin	: 129°
Verbindung Gn_2 - Benzanilid	: 147°
Verbindung Gn-monomethyläther + Benzanilid	: 146°

Tabelle 3

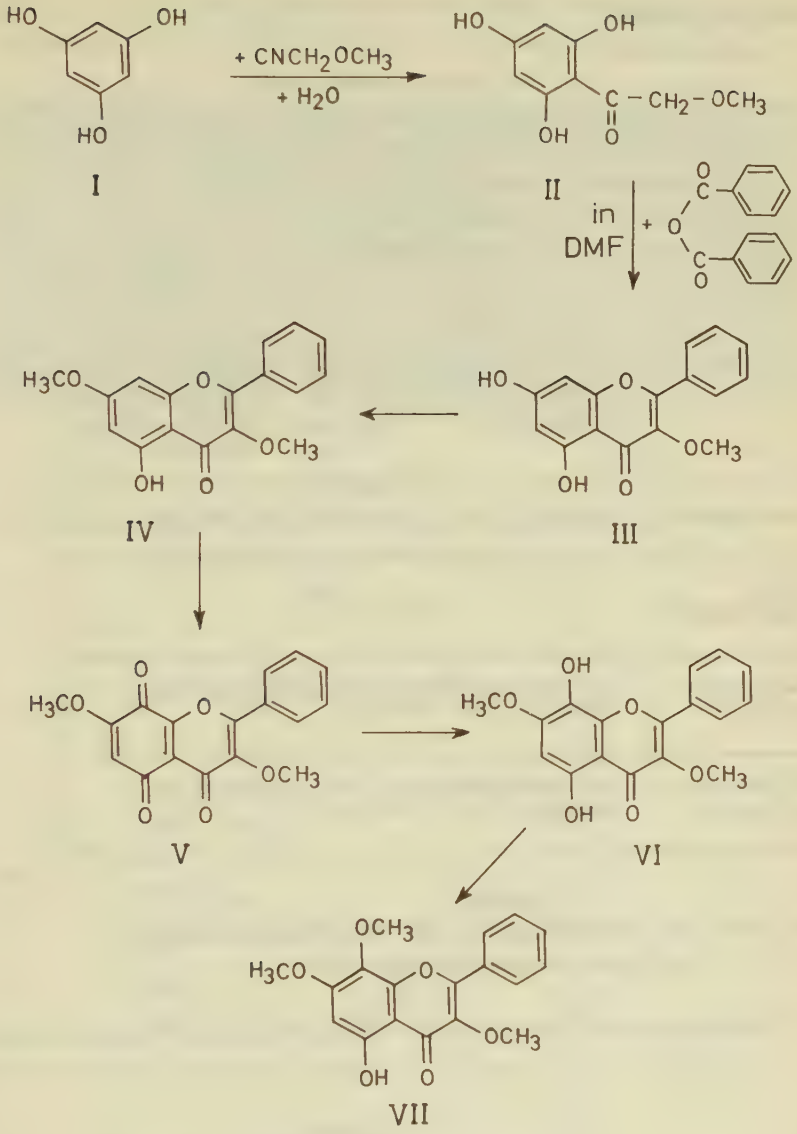
3.2. Die Synthese des Gn-monomethyläthers

Schließlich wurde der Stoff noch synthetisiert, um den endgültigen Strukturbeweis der Substanz Gn_2 zu erbringen. Die Synthese erfolgte durch eine Elbs-Oxydation (50) des

5-Hydroxy-3,7-dimethoxyflavons und anschließender Methylierung der 8-OH-Gruppe. Das 5-Methoxy-3,7-dimethoxyflavon wurde durch eine leicht veränderte Allan-Robbinson-Kondensation (49) des ω-Methoxy, 2,4,6-Trihydroxyacetophenons mit Benzoesäureanhydrid synthetisiert. Üblicherweise wird bei der Allan-Robinson Kondensation das Acetophenon mit Benzoesäureanhydrid und Natriumbenzoat gut vermischt und dann 4 Stunden lang bei 175-180° in einem Ölbad unter Vakuum erhitzt. Nach dem Abkühlen wird dann die verbackene Mischung zerkleinert, mit Äthanol vermischt und 10 Minuten lang am Rückfluß erneut erhitzt. Eine Kaliumhydroxydlösung wird tropfenweise zugegeben, und die Mischung weitere 20 Minuten lang am Rückfluß gekocht. Der Alkohol wird anschließend unter vermindertem Druck abdestilliert und der Rückstand mit Wasser vermischt. Um unlösliche Anteile abzutrennen, wird die Mischung filtriert und mit CO_2 abgesättigt. Aus dieser Mischung wird das Flavon mit Äther extrahiert.

Demgegenüber haben wir (51) herausgefunden, daß man auf einfacherem Wege und unter milderen Bedingungen zu dem gleichen Ergebnis kommt, wenn man das Acetophenon zusammen mit dem Benzoesäureanhydrid in Gegenwart einer kleinen Menge von Kaliumcarbonat in Dimethylformamid 1 Stunde lang kocht.

Aus dieser Mischung kann bereits durch Zugabe von H_2O ein Teil des Flavons ausgefällt werden. Der Rest wird durch Neutralisieren des Reaktionsgemisches mit Essigsäure und anschließendem Extrahieren mit Essigester erhalten (s. Schema 7).


HO
OH
HO
I
+ CNCH2OCH3
+ H2O
HO
OH
C – CH2 – OCH3
O
OH
II
in
DMF
+
O
C
O
O
C
O
H3CO
O
OCH3
OH
O
IV
HO
O
OCH3
OH
O
III
O
H3CO
O
OCH3
O
O
V
OH
H3CO
O
OCH3
OH
O
VI
OCH3
H3CO
O
OCH3
OH
O
VII

Schema 7

Legende zu Schema 7

I Phloroglucin
II -Methoxy-2,4,6-trihydroxyacetophenon
III 5,7-Dihydroxy-3-methoxyflavon
IV 5-Hydroxy-3,7-dimethoxyflavon
V 3,7-Dimethoxy-5,8-chinoflavon
VI 5,8-Dihydroxy-3,7-dimethoxyflavon
VII 5-Hydroxy-3,7,8-trimethoxyflavon

	Monomethyläther des natürlichen Gnaphaliins	Gn_2 (isoliert)	5-Hydroxy-3,7,8-trimethoxyflavon (synth.)
Schmelzpunkt	173-175°	174-176°	176-178°
Mischschmelzpunkt	174 - 177°		
UV-Spektrum (s.Abb.10)	Der Kurvenverlauf ist identisch im Bereich 220 - 380 nm		
IR-Spektrum (s.Abb.8)	Der Kurvenverlauf ist identisch im Bereich 700 - 1400 cm^{-1}		

Tabelle 4

Vergleich der Verbindung Gn_2 mit dem Monomethyläther von Gn und dem Syntheseprodukt

Durch ein IR-Überlagerungsspektrum konnte nachgewiesen werden, daß beide Substanzen identisch sind (s.Abb.8).

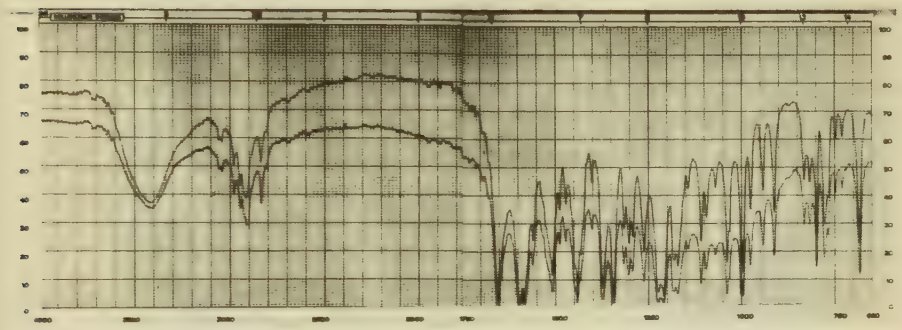


Abb. 8

IR-Überlagerungsspektrum von Gn_2 und Gn-monomethyl-äther (KBr Preßling)

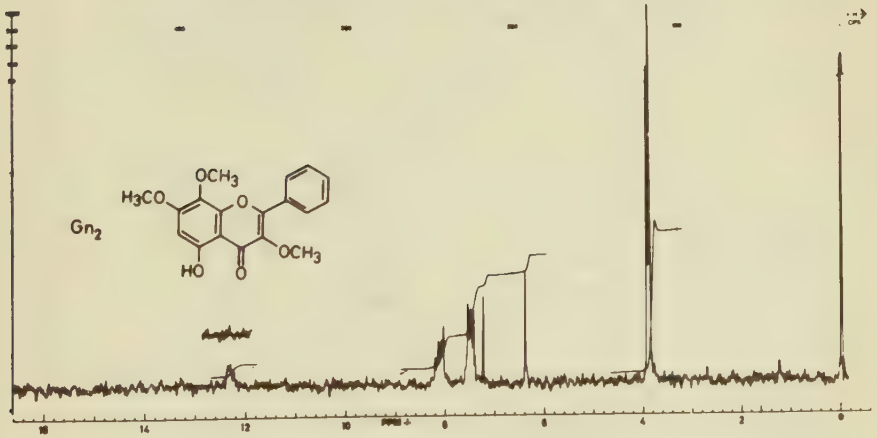


Abb. 9

60MHz-NMR-Spektrum von Gn_2 in $CDCl_3$

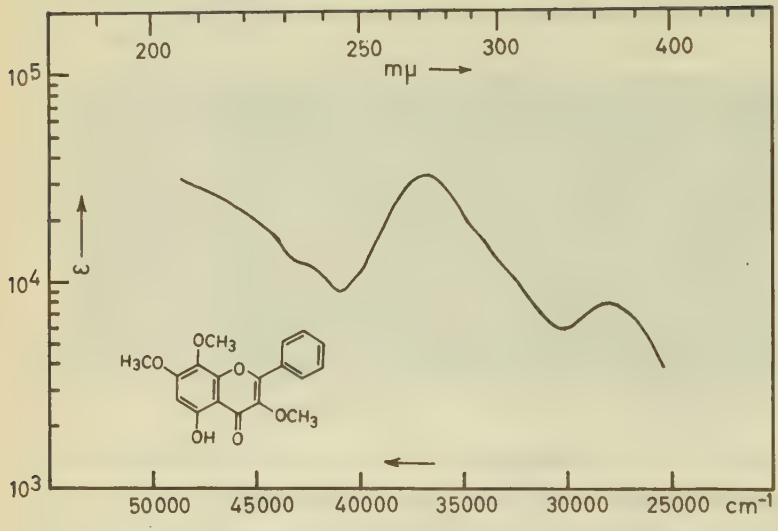


Abb. 10

UV-Spektrum von Gn_2 und Gn-monomethyläther (in Methanol)

4. Identifizierung der Verbindung Gn_3

Ähnlich wie bei der Verbindung Gn_2 verlief auch die Strukturaufklärung der Verbindung Gn_3. Wiederum gab das Massenspektrum die ersten Hinweise.

Die botanische Verwandtschaft zwischen Gnaphalium und Helichrysum läßt, wie schon erwähnt, auch eine gewisse chemische Verwandtschaft vermuten. Aus diesem Grunde wurde das Massenspektrum des 3,5-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavons, das von Schwarz (31) aus dem Petrolätherextrakt von Helichrysum arenarium isoliert wurde, mit dem Massenspektrum von Gn_3 verglichen. Dabei stellte sich eine sehr große Ähnlichkeit dieser beiden Substanzen heraus. Die beiden Molekülpeaks im Massenspektrum der beiden Substanzen bildeten eine Differenz von 14 m/e. (Schwarz: 344 m/e, Gn_3: 330 m/e). Die Bruchstückbildung von 105 m/e bzw. 77 m/e war bei beiden Spektren zu finden, d.h. bei beiden Substanzen ist der B-Ring unsubstituiert.

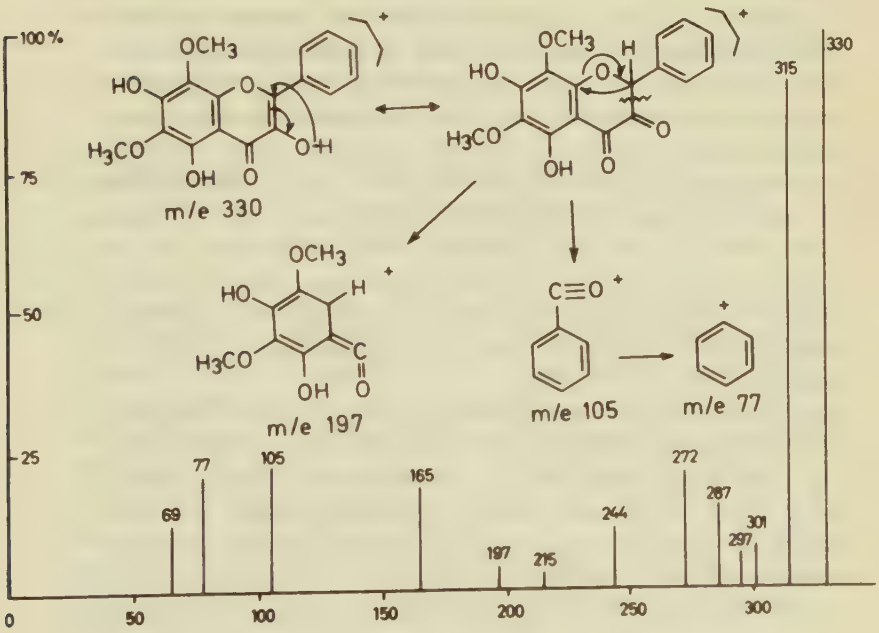


Abb. 11

Massenspektrum und Bruchstückbildung von Gn_3

Auch das UV-Spektrum von Gn_3 zeigte Ähnlichkeiten mit dem von Schwarz isolierten 3,5-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavon.

Gn_3 (s.Abb.14)		277 nm (4,31)	323 nm (4,06)	370 nm (3,97)
Schwarz: 3,5-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxy-flavon	246 nm (infl. 4,16)	278 nm (4,36)	325 nm (4,15)	377 nm (4,11)

Tabelle 5

Aus diesen Angaben ergab sich folgende Arbeitshypothese: Bei dem Stoff Gn_3 muß es sich um ein Flavonoid handeln, das sich von dem erwähnten Flavon nur um eine Methylgruppe unterscheidet.

Die Substanz wurde deshalb zunächst mit Diazomethan methyliert und dann mit dem 5-Hydroxy, 3,6,7,8-Tetramethoxyflavon und dem 3,5,6,7,8-Pentamethoxyflavon - den Methylprodukten des erwähnten Flavons von Schwarz - chromatographisch verglichen. Der Vergleich ergab, daß die Methylierungsprodukte von Gn_3 mit dem Mono- bzw. Dimethyläther der Substanz von Schwarz identisch waren (s.Tab.6). Daraus folgt, daß es sich bei denMethylierungsprodukten der Verbindung Gn_3 um den Di- bzw. Trimethyläther handeln muß, denn vor der Methylierung hatte Gn_3 einen um 14 m/e geringeren Molekülpeak als das 3,5-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavon von Schwarz.

Wegen der geringen Substanzmenge, die noch zur Verfügung stand, wurde das Gemisch der Methylierungsprodukte von Gn_3 dc-chromatographisch in dem Laufmittel Benzol/Essigester (100:30) getrennt und mit heißem Methanol von dem Kieselgel eluiert. Nach dem Einengen kristallisierte das Dimethylprodukt (Monomethyläther des 3,5-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavons) als braungelbe Nadeln aus, Fp. 98-99°.

Substanz	DC: Kieselgel Fertigplatten (Merck)		DC: Polyamid
	R_f-Werte im Laufmittel		
	I	II	III
Gn_3-Dimethyläther	0,85	0,94	0,54
5-Hydroxy-3,6,7-8-tetramethoxyflavon	0,85	0,94	0,54
Gn_3-Trimethyläther	0,45	0,8	0,83
3,5,6,7,8-Pentamethoxyflavon	0,45	0,8	0,83

Tabelle 6

Der chromatographische Vergleich von Gn_3-Dimethyläther und Gn_3-Trimethyläther mit dem 5-Hydroxy-3,6,7,8-tetramethoxyflavon und dem 3,5,6,7,8-Pentamethoxyflavon

Laufmittel: I Benzol/Essigester (100:30)
II Benzol/Dioxan/Eisessig (90:25:4)
III Äthanol/H_2O (60:40)

Der Mischschmelzpunkt des Gn_3-Dimethyläthers mit dem des 5-Hydroxy-3,6,7,8-tetramethoxyflavons unterstützte die Annahme einer Übereinstimmung beider Derivate (99-100°). Das UV-Spektrum des Gn_3-Dimethyläthers hatte sich erwartungsgemäß gegenüber der nicht methylierten Ausgangssubstanz verändert. Durch die Methylierung hatten sich die beiden langwelligen Banden (λ 323 nm, λ 370 nm) hypsochrom verschoben (λ 312 nm, λ 354 nm). Dieser Effekt ist charakteristisch für Flavonole nach der Methylierung der 3-Hydroxygruppe. Damit ist ein eindeutiger Hinweis darauf gegeben, daß Gn_3 ein Flavonol ist.

Der Vergleich der UV-Spektren von Gn_3-Dimethyläther und 5-Hydroxy-3,6,7,8-tetramethoxyflavon ergab, daß beide Methylderivate weitgehend übereinstimmen.

Gn_3-Dimethyläther (s.Abb.13)	280 nm (4,51)	312 nm (4,1)	354 nm (3,82)
5-Hydroxy-3,6,7,8-tetramethoxy-flavon	280 nm (4,42)	315 nm (4,04)	353 nm (3,78)

Tabelle 7

Der Vergleich der UV-Spektren von Gn_3-Dimethyläther mit dem 5-Hydroxy-3,6,7,8-tetramethoxyflavon

Die IR-Spektren stimmten in dem Bereich 700-1400 cm^{-1} überein.

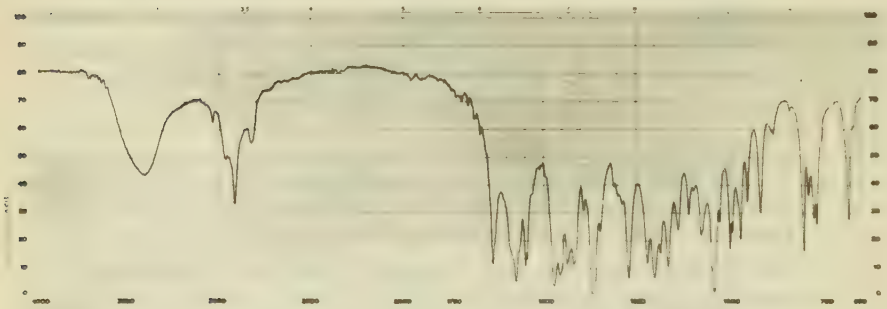


Abb. 12

IR-Spektrum des Gn_3-Dimethyläthers (KBr Preßling)

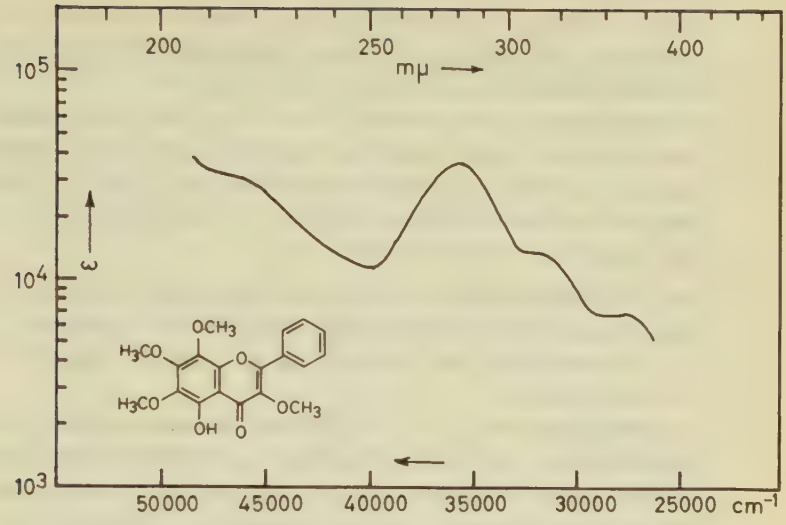


Abb. 13

UV-Spektrum des Gn_3-Dimethyläthers (in Methanol)

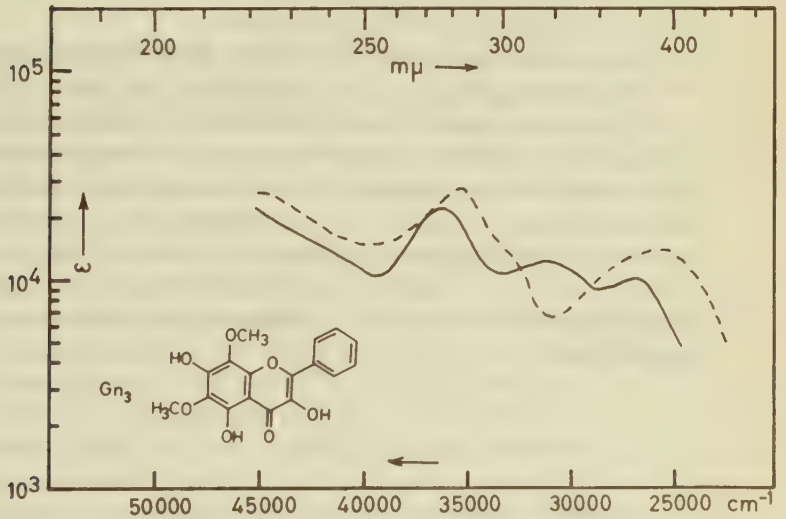


Abb. 14

——— = UV-Spektrum der Substanz Gn_3 (in Methanol)

- - - - = UV-Spektrum der Substanz Gn_3 in Gegenwart von wasserfreiem Natriumacetat

Nachdem durch die bisherigen Untersuchungen festgelegt wurde, daß Gn_3 ein Flavonol ist, dessen B-Ring unsubstituiert ist, bleibt nun noch zu klären, wie das Substitutionsmuster im A-Ring beschaffen ist.
Zunächst wurde noch einmal durch eine Komplexbildungsreaktion die 3-Hydroxygruppe nachgewiesen. Mit Zirkonylchlorid bildet sich nämlich in Gegenwart einer 3-Hydroxygruppe ein farbiger Komplex aus, der nach Zusatz von Zitronensäure stabil bleibt (32).

Aus dem NMR-Spektrum (s.Abb.15) läßt sich entnehmen, daß außerdem noch zwei weitere OH-Gruppen (δ 11,62 ppm, δ 6,48 ppm) und zwei OCH_3-Gruppen (δ 4,06 ppm, δ 4,03 ppm) vorhanden sind.
Das Singulett bei δ 11,62 ppm ist eindeutig wegen der starken Entschirmung, der chelatisierten 5-OH-Gruppe zuzuordnen. Ein weiterer Beweis für die 5-OH-Gruppe ist die bathochrome Verschiebung, die das langwellige Maximum des Gn_3-Dimethyläthers nach Zugabe von Aluminiumchlorid erfährt. Durch den Aluminiumkomplex, der sich zwischen 5-OH und C-4-Carbonylgruppe gebildet hat, wurde λ 312 nm um 29 nm zum Langwelligen hin verschoben.
Die OH-Gruppe δ 6,48 ppm konnte als 7-OH dadurch identifiziert werden, daß sich im UV-Spektrum das Maximum bei λ 277 nm nach Zugabe einer gesättigten methanolischen Lösung von wasserfreiem Natriumacetat um 8 nm verschob.
Die beiden Methoxylgruppen können nunmehr nur noch in Stellung 6 und 8 gesetzt werden. Daraus folgt zusammen mit den Werten der Elementaranalyse (ber.: C 61,87; H 4,24; gef.: C 61,44; H 4,21), daß es sich bei der Verbindung Gn_3 um ein 3,5,7-Trihydroxy-6,8-dimethoxyflavon handeln muß.

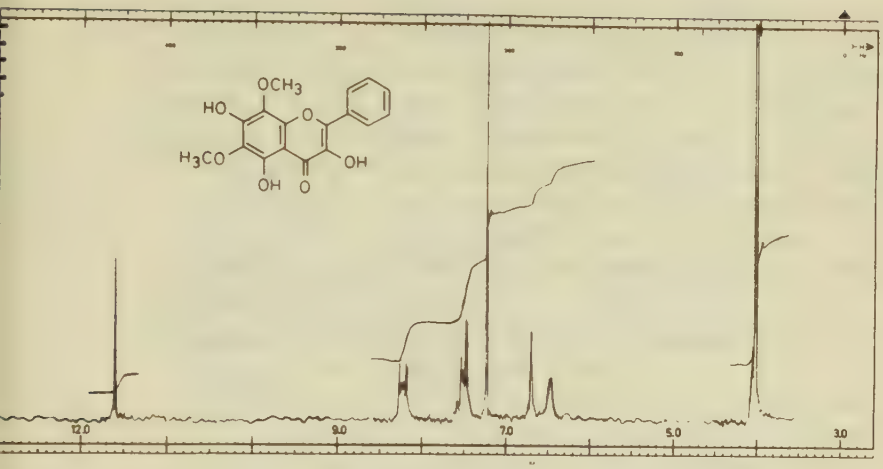


Abb. 15

100MHz-NMR-Spektrum von Gn_3 (in $CDCl_3$)

5. Charakterisierung der Verbindung Gn_{125}

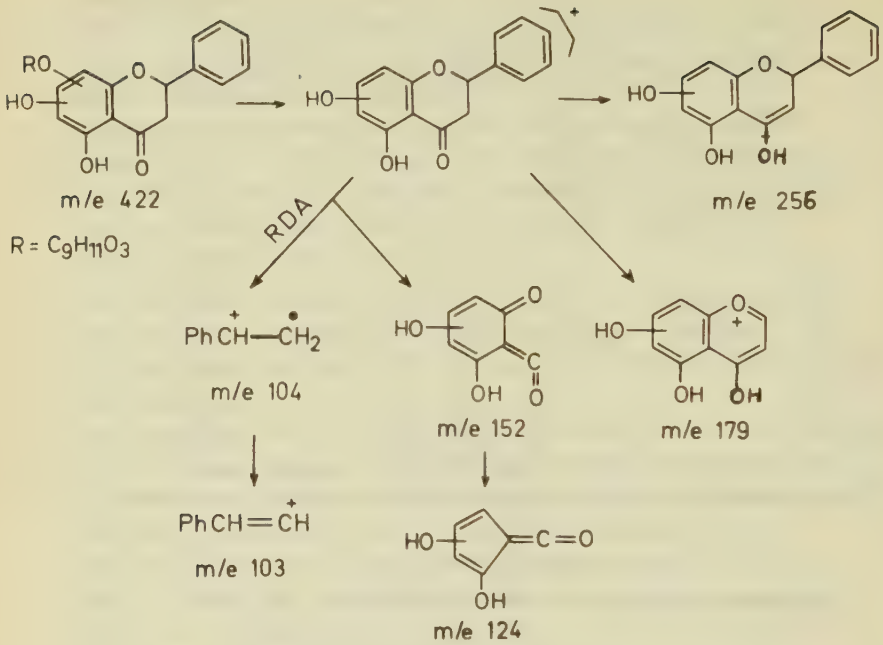
5.1. Durch spektroskopische Methoden und theoretische Berechnungen des ABX Systems

Wie die übrigen bereits identifizierten Substanzen, so konnte auch diese Substanz aus der lipophilen Fraktion isoliert werden.

Die Substanz hat einen Fp. 202-206°, absorbiert bei 293 nm mit einer Intensität ε = 24400.

Mit den Ergebnissen der Elementaranalyse (C 68,04;H 5,54) und dem Molekulargewicht aus dem Massenspektrum läßt sich folgende Summenformel formulieren: $C_{24}H_{22}O_7$ (422,4). In der Literatur (46) findet man für eine Substanz mit dieser Summenformel und dem erwähnten Molekulargewicht die Unsättigungszahl R = 14. Vergleicht man nun das UV-Spektrum der Substanz mit charakteristischen UV-Spektren der Literatur (59), so gelangt man in die Nähe der Flavanone (Bande II 270-295 nm) und der Acetophenone (Bande II 280 nm). Aus der Bruchstückbildung m/e 104, ($PhC\overset{+}{H}\cdot CH_2$) und

Bruchstückbildung Gn_{125}



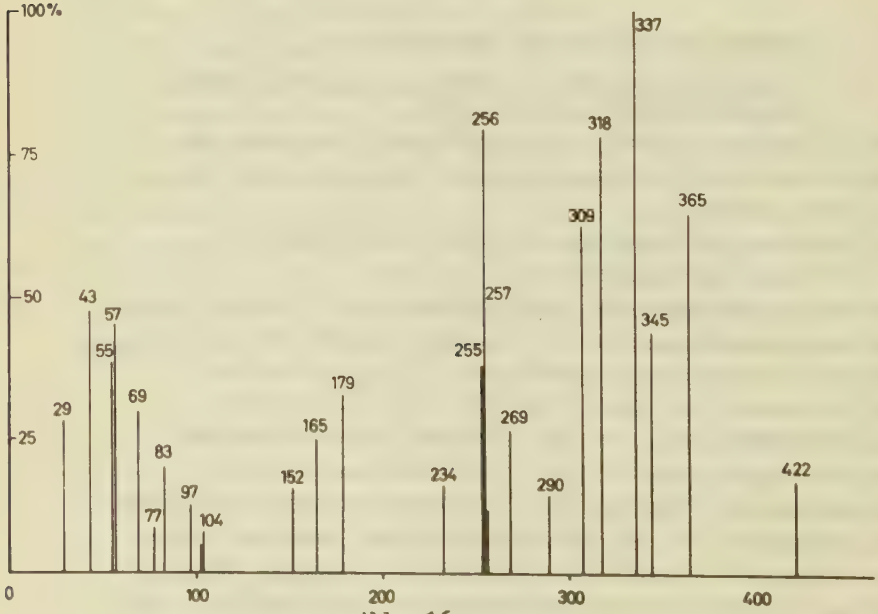


Abb. 16

Massenspektrum von Gn_{125}

m/e 103, ($PhCH=\overset{+}{C}H$) kann man die Information entnehmen, daß in dem Molekül ein unsubstituierter Benzolring vorhanden sein muß. Aufgrund des hohen Molekulargewichts, der Unsättigungszahl und aufgrund der ersten Information aus dem Massenspektrum läßt sich nur ein Flavanon formulieren, dessen B-Ring unsubstituiert ist.
Zieht man das Flavanongrundgerüst (C_{15}-Körper) von dem C_{24}-Körper ab, und verfährt man mit der Unsättigungszahl ebenso (R=14 für C_{24}-Körper, R=10 für C_{15}-Körper = Flavanon), so ergibt sich für den Rest C_9 eine Unsättigungszahl von R=4.
Diese Information und Überlegungen werden durch das NMR-Spektrum bestätigt und ergänzt.
Das Triplett bei δ 1,16 ppm und das Quadruplett bei δ 2,53 ppm sind die Aufspaltungen einer isolierten aliphatischen CH_3-CH_2-Gruppe. Bei δ 1,86 ppm findet sich ein Singulett, das charakteristisch für eine entschirmte aliphatische CH_3-Gruppe ist. Zwischen δ 2,67 ppm bis δ 3,53 ppm zeigt das Spektrum ein Multiplett aus 8 Linien. Als Ergänzung zu diesem findet sich ein Doppeldublett bei δ 5,52 ppm. Das gesamte System hat demnach 12 Linien und entspricht damit dem Aufspaltungsmuster eines ABX-Systems (s.Abb. 17,18).
In der Literatur (47) wird für den Ring C eines Flavanons ein ABX-System beschrieben mit den Kopplungskonstanten:

1. vicinale Kopplung : $J_{cis} = \pm 3{,}1$ Hz
   $J_{trans} = \pm 12{,}9$ Hz
2. geminale Kopplung : $J_{gem} = 17{,}1$ Hz

Dem Spektrum kann ohne großen Rechenaufwand eine Reihe von Informationen entnommen werden (23,38).
Der Ab Teil besteht aus den erwähnten 8 Linien (2 Quadrupletts). Der Abstand zwischen den Linien 3 , 1 ; 4 , 2 ; 7 , 5 ; 8 , 6 in Hz ist die Kopplungskonstante J_{AB}. In diesem Fall beträgt sie 14 Hz.

J_{AB}= 3 - 1 = 4 - 2 = 7 - 5 = 8 - 6

J_{AB}= 173 Hz - 159 Hz = 177 Hz - 163 Hz = 197 Hz - 183 Hz = 208 Hz - 194 Hz

J_{AB}= 14 Hz

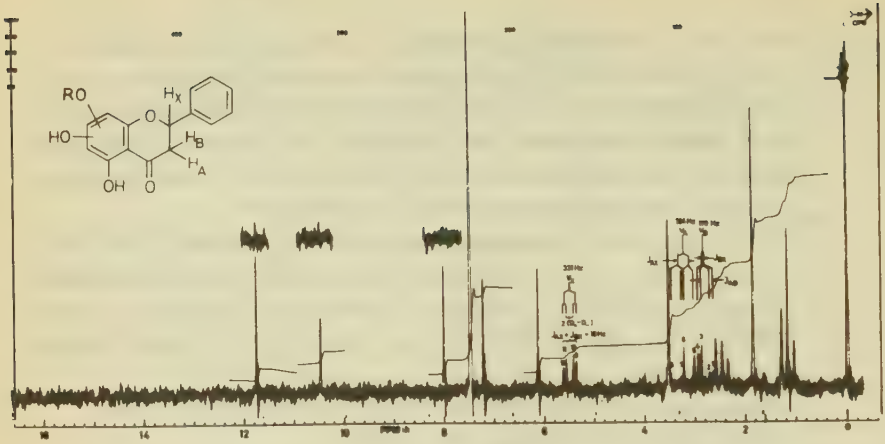


Abb. 17

60MHz-NMR-Spektrum von Gn_{125} (in $CDCl_3$)

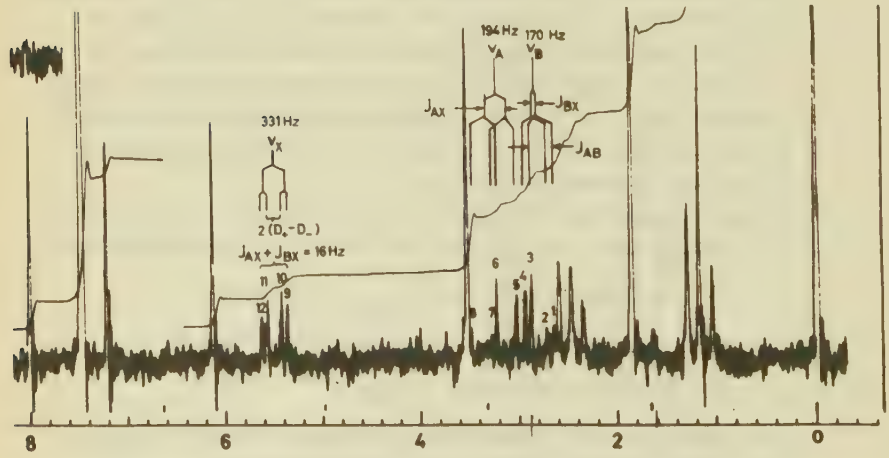


Abb. 18

Ausschnitt aus dem 60MHz-NMR-Spektrum von Gn_{125}

Zur Bestimmung von $2D_+$ und $2D_-$ sind lediglich die Frequenzen folgender Linien voneinander zu subtrahieren:

$2D_+ = 6 - 2 = 194Hz - 162Hz = 32Hz$
$2D_+ = 8 - 4 = 208Hz - 177Hz = 31Hz$

$2D_- = 5 - 1 = 7 - 3 = 183Hz-159Hz = 197Hz-173Hz = 24Hz$

Der X-Teil des Spektrums besteht normalerweise aus 6 Linien, wobei die äußeren Linien wegen der geringeren Intensität nicht immer wahrnehmbar sind.
In diesem Teil lassen sich die Größen D_+ und D_- noch einmal bestimmen. Durch Subtraktion der Frequenzen des inneren Linienpaares erhält man den Wert für $2(D_+-D_-)$. In diesem Falle beträgt er 8 Hz.

$2(D_+- D_-) = 335Hz - 327Hz$
$2(D_+- D_-) = 8Hz$

Der Abstand des äußeren Linienpaares ergibt den Wert für

$J_{AX}+J_{BX} = 339Hz - 323Hz$

$J_{AX}+J_{BX} = 16Hz$

Aus dem Spektrum wurden somit folgende Größen festgelegt (s.Abb.18).

$J_{AB} = 14Hz$

$J_{AX}+J_{BX} = 16Hz$

$2D_+ = 32Hz$
$2D_- = 24Hz$
$2(D_+ - D_-) = 8Hz$

5.1.1. Berechnung der Kopplungskonstanten J_{AX} und J_{BX} (38)
Setzt man diese Werte in die folgende Gleichung ein, so lassen sich die Kopplungskonstanten J_{AX} und J_{BX} leicht bestimmen.

$$1/2\ (J_{AX}-J_{BX}) = \left[(D_+ + 1/2\ J_{AB})(D_+ - 1/2\ J_{AB})\right]^{1/2} - \left[(D_- + 1/2\ J_{AB})(D_- - 1/2\ J_{AB})\right]^{1/2}$$

$$= \left[(16Hz + 7Hz)(16Hz - 7Hz)\right]^{1/2} - \left[(12Hz + 7Hz)(12Hz - 7Hz)\right]^{1/2}$$

$$= \left[23.9\right]^{1/2} - \left[19.5\right]^{1/2}$$

$$= \sqrt{207\,Hz} - \sqrt{95\,Hz} = 14{,}4\ Hz - 9{,}7\ Hz$$

$$1/2\ (J_{AX}-J_{BX}) = +\ 4{,}7\,Hz;\ -\ 24{,}1\ Hz$$

Vergleicht man die Werte der nachfolgenden Rechnung mit den Meßwerten des Spektrums (Abb.17,18), so ist $1/2(J_{AX}-J_{BX}) = +\ 4{,}7$ Hz.

$$\begin{aligned} J_{AX}-J_{BX} &= 9{,}4\ Hz \\ +\ J_{AX}+J_{BX} &= 16{,}0\ Hz \\ \hline 2\ J_{AX} &= 25{,}4\ Hz \end{aligned}$$

$$J_{AX} = 12{,}7\ Hz$$

$$J_{BX} = 12{,}7\ Hz - 9{,}4\ Hz$$

$$J_{BX} = 3{,}3\ Hz$$

5.1.2. Berechnung der chemischen Verschiebung für die Protonen A,B,X

Um die chemische Verschiebung der Protonen A und B zu berechnen, muß zunächst der Schwerpunkt des AB-Teiles aus den Schwerpunkten der beiden Quadrupletts nach folgender Gleichung ermittelt werden:

$$S = 1/4\ (\nu_3 + \nu_4 + \nu_5 + \nu_6)$$

$$S = 1/4\ (173\ Hz + 177\ Hz + 183\ Hz + 194\ Hz)$$

$$S = \frac{727}{4}\ Hz$$

$$S = 181{,}7\ Hz \approx 182\ Hz$$

Eine zweite Größe, $1/2\ \nu_0 \delta_{AB}$, muß ebenfalls erst berechnet werden:

$$1/2\ \nu_0 \delta_{AB} = (D_+^2 - 1/4\ J_{AB}^2)^{1/2} - 1/4\ (J_{AX}-J_{BX})$$

$$= \sqrt{256\ Hz - 49\ Hz} - 2{,}4\ Hz$$

$$= \pm\ 14{,}4\ Hz - 2{,}4\ Hz$$

$$1/2\ \nu_0 \delta_{AB} = +\ 12\ Hz$$

$$-\ 16{,}8\ Hz$$

Welcher der Werte der richtige ist, ergibt sich aus dem Vergleich der berechneten und gemessenen Frequenzen der Linien im AB-Teil; denn nur mit den nachfolgenden Werten

für die chemische Verschiebung der Protonen A und B (ν_A und ν_B) erhält man übereinstimmende Ergebnisse.

$$\nu_A = 182\ \text{Hz} + 12\ \text{Hz} = 194\ \text{Hz}$$

$$\nu_B = 182\ \text{Hz} - 12\ \text{Hz} = 170\ \text{Hz}$$

Die chemische Verschiebung des X-Protons läßt sich ebenfalls berechnen:

$$\nu_X = \frac{\nu_9 + \nu_{12}}{2} = \frac{\nu_{10} + \nu_{11}}{2}$$

$$\nu_X = \frac{323\text{Hz} + 339\text{Hz}}{2} = \frac{335\text{Hz} + 327\text{Hz}}{2} = 331\ \text{Hz}$$

5.1.3. Berechnung der Frequenzen der Linien im AB-Teil

Um die Gewähr zu haben, daß alle bisher bestimmten Werte richtig sind, kann man die Energien der einzelnen Linien des Systems berechnen. An dieser Stelle sollen lediglich die Linien des AB-Teiles als Beispiel berechnet werden.

$$\nu_1 = 1/2\ (\nu_A + \nu_B) - 1/4\ (2J_{AB}+J_{AX}+J_{BX}) - D_-$$

$$\nu_1 = 1/2\ (194\text{Hz}+170\text{Hz}) - 1/4\ (28\text{Hz}+12{,}7\text{Hz}+3{,}3\text{Hz}) + 12\text{Hz}$$

$$\nu_1 = 182\text{Hz}-11\text{Hz}-12\text{Hz}$$

$$\nu_1 = 159\text{Hz} \quad \text{berechnet}$$

$$\nu_1 = 159\text{Hz} \quad \text{gemessen}$$

$$\nu_2 = 1/2\ (\nu_A + \nu_B) - 1/4\ (2J_{AB}-J_{AX}-J_{BX}) - D_+$$

$$\nu_2 = 182\text{Hz} - 1/4\ (28\text{Hz}-12{,}7\text{Hz}-3{,}3\text{Hz}) - 16\ \text{Hz}$$

$$\nu_2 = 182\text{Hz}-3\text{Hz}-16\text{Hz}$$

$$\nu_2 = 163\text{Hz} \quad \text{berechnet}$$

$$\nu_2 = 163\text{Hz} \quad \text{gemessen}$$

$$\nu_3 = 1/2\ (\nu_A + \nu_B) + 1/4\ (2J_{AB}-J_{AX}-J_{BX}) - D_-$$

$$\nu_3 = 182\text{Hz} + 1/4\ (28\text{Hz}-2{,}7\text{Hz}-3{,}3\text{Hz}) - 12\text{Hz}$$

$$\nu_3 = 182\text{Hz}+3\text{Hz}-12\text{Hz}$$

$$\nu_3 = 173\text{Hz} \quad \text{berechnet}$$

$$\nu_3 = 173\text{Hz} \quad \text{gemessen}$$

$$\nu_4 = 1/2\ (\nu_A + \nu_B) + 1/4\ (2J_{AB}+J_{AX}+J_{BX}) - D_+$$
$$\nu_4 = 182\text{Hz} + 1/4\ (28\text{Hz}+16\text{Hz}) - 16\ \text{Hz}$$
$$\nu_4 = 182\text{Hz}+11\text{Hz}-16\text{Hz}$$
$$\nu_4 = 177\text{Hz}\quad \text{berechnet}$$
$$\nu_4 = 177\text{Hz}\quad \text{gemessen}$$

$$\nu_5 = 1/2\ (\nu_A + \nu_B) - 1/4\ (2J_{AB}+J_{AX}+J_{BX}) + D_-$$
$$\nu_5 = 182\text{Hz}-11\text{Hz}+12\text{Hz}$$
$$\nu_5 = 183\text{Hz}\quad \text{berechnet}$$
$$\nu_5 = 183\text{Hz}\quad \text{gemessen}$$

$$\nu_6 = 1/2\ (\nu_A + \nu_B) - 1/4\ (2J_{AB}-J_{AX}-J_{BX}) + D_+$$
$$\nu_6 = 182\text{Hz}-3\text{Hz}+16\text{Hz}$$
$$\nu_6 = 195\text{Hz}\quad \text{berechnet}$$
$$\nu_6 = 195\text{Hz}\quad \text{gemessen}$$

$$\nu_7 = 1/2\ (\nu_A + \nu_B) + 1/4\ (2J_{AB}-J_{AX}-J_{BX}) + D_-$$
$$\nu_7 = 182\text{Hz}+3\text{Hz}+12\text{Hz}$$
$$\nu_7 = 197\text{Hz}\quad \text{berechnet}$$
$$\nu_7 = 197\text{Hz}\quad \text{gemessen}$$

$$\nu_8 = 1/2\ (\nu_A + \nu_B) + 1/4\ (2J_{AB}+J_{AX}+J_{BX}) + D_+$$
$$\nu_8 = 182\text{Hz}+11\text{Hz}+16\text{Hz}$$
$$\nu_8 = 209\text{Hz}\quad \text{berechnet}$$
$$\nu_8 = 208\text{Hz}\quad \text{gemessen}$$

Bei δ 3,53 ppm erscheint ein Singulett, das einer isolierten CH_2-Gruppe zugeordnet werden muß. Ein aromatisches Proton des A-Ringes findet sich als Singulett bei 6,14 ppm. Der unsubstituierte B-Ring erscheint als Singulett mit 5 Protonen bei δ 7,5 ppm. Die Singuletts bei δ 8,03 ppm, δ 10,5 ppm sowie bei δ 11,8 ppm sind OH-Gruppen (s.Abb.17).

Sie sind mit D_2O austauschbar. Bei den OH-Gruppen ist die Tatsache überraschend, daß sie bei so niedrigem Feld auftreten. Erklären kann man dieses Phänomen nur mit der Ausbildung einer Wasserstoffbrücke zwischen der OH-Gruppe und einem Protonenakzeptor, z.B. einer Ketogruppe.
Nach den bisherigen Ergebnissen läßt sich demnach folgendes feststellen:

1. Die Substanz absorbiert im UV bei 293 nm
2. Die Substanz zeigt im Massenspektrum eine Bruchstückbildung nach einem Retro-Diels-Alder Mechanismus, wie sie für Flavanone typisch ist.
3. Die Substanz weist im NMR-Spektrum ein ABX-System auf mit folgenden Konstanten:
   J_{AB} = 14 Hz
   J_{AX} = 12,7 Hz
   J_{BX} = 3,3 Hz
4. Das Singulett für die 5 aromatischen Protonen, des unsubstituierten Protons aus dem A-Ring bei δ 6,14 ppm sowie das chelatisierte Proton der 5-OH-Gruppe bei δ 11,8 ppm, weisen ebenfalls auf ein Flavanon hin.

Daraus ergibt sich, daß die vorliegende Substanz ein im B-Ring unsubstituiertes Flavanon ist, dessen A-Ring bis auf eine Stellung vollbesetzt ist.
Die übrigen nicht weiter festgelegten Signale im NMR-Spektrum müssen demnach dem C_9-Rest zugeordnet werden.

5.1.4. Diskussion der IR- und UV-Spektren

Im IR-Spektrum findet man die Bestätigung, daß der B-Ring des Flavanons unsubstituiert ist. (705,770 cm^{-1}, CH-Streckschwingungen monosubstituierter Aromaten). Die Banden zwischen 1500 und 1630 cm^{-1} geben einen eindeutigen Hinweis auf die aromatische Struktur des Flavanons. Die C=O Valenzschwingung des Flavanons liegt bei 1650 cm^{-1}. Da bei einem unsubstituierten Flavanon die Frequenz für eine C=O Schwingung bei 1680 cm^{-1} liegt, ist anzunehmen, daß in dem vorliegenden Fall die C=O-Gruppe mit der

OH-Gruppe in 5-Stellung einen sechsgliedrigen Chelatring bildet und dadurch die Frequenz für die C=O Valenzschwingung um 30 cm^{-1} verringert (s.Abb.19).
Hinweise auf chelatisierte OH-Gruppen wurden bereits im NMR-Spektrum gegeben.

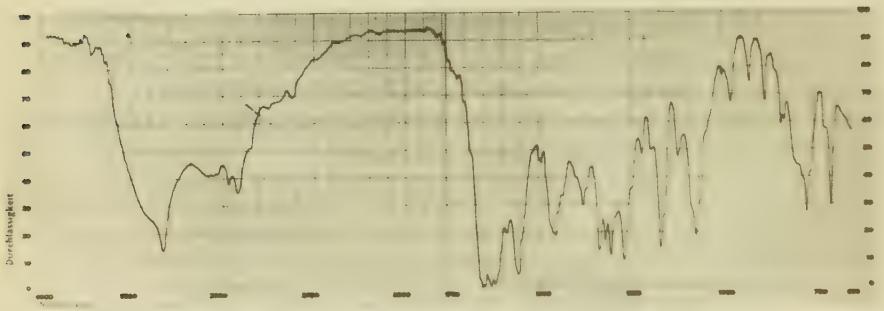


Abb. 19

IR-Spektrum von Gn_{125} (KBr Preßling)

Das UV-Spektrum von Gn_{125} hat den typischen Charakter eines substituierten Flavanons (λ 293 nm, lg ϵ 4,38). Mit Natriumacetat konnte lediglich eine bathochrome Verschiebung der Bande bei 293 nm um 2 nm festgestellt werden. Demgegenüber erfolgte nach Zugabe von Aluminiumchlorid eine Verschiebung der kurzwelligen Bande um 22 nm zum langwelligen Bereich. Außerdem trat ein zusätzliches Maximum bei λ 389 nm auf, ein Beweis für eine freie 5-OH-Gruppe.

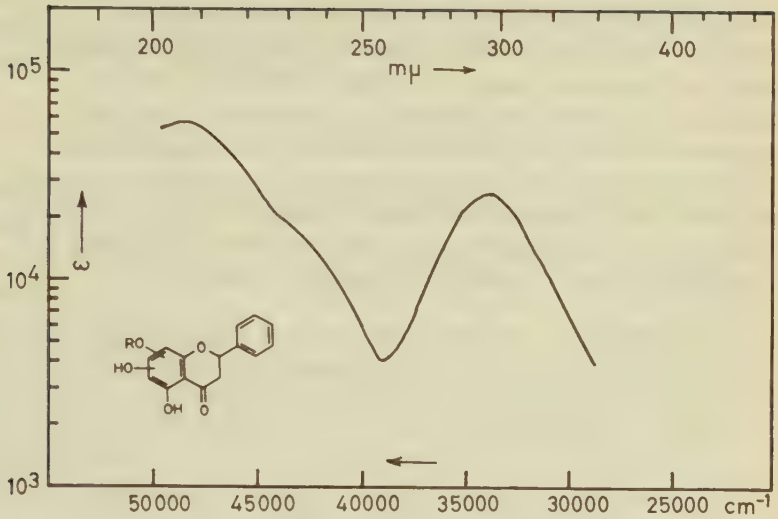


Abb. 20

UV-Spektrum von Gn_{125} (in Methanol)

5.2. Hydrierung der Substanz

Aus den spektroskopischen Untersuchungen von Gn_{125} konnten bisher lediglich eindeutige Aussagen über den Flavanongrundkörper gemacht werden. Durch Hydrieren der Substanz soll versucht werden, den C_9-Rest etwas mehr zu charakterisieren. Zu dem Zweck wurden 5 mg der Substanz mit Pd/C 10%ig als Katalysator 1 1/2 Stunden lang hydriert. Angenommen wurde, daß dabei mindestens 1 Mol Wasserstoff aufgenommen werden würde. In diesem Fall bedeutet das einen theoretischen Verbrauch von 0,288 ml Wasserstoff. Tatsächlich waren nach 1 1/2 Std. 0,302 ml verbraucht. Die Substanz war chromatographisch einheitlich und der R_f-Wert hatte sich in dem Laufmittel Benzol/Aceton (9:1) gegenüber der nicht hydrierten Substanz verringert. Das Massenspektrum zeigte eine Zunahme des Molekulargewichtes um m/e 2 (M 424).

Zunächst könnte eine Hydrierung der C=O-Gruppe des Flavanons angenommen werden. Diese Annahme wird jedoch durch das IR-Spektrum widerlegt. Die C=O-Bande bei 1650 cm^{-1} hat sich nicht geändert. Auffallend verändert aber hat sich der Bereich zwischen 1000 und 1250 cm^{-1} und zwischen 3000 und 3500 cm^{-1}. Beide Bereiche sind charakteristisch für alkoholische OH-Gruppen. Es kann vermutet werden, daß eine C=O-Gruppe, die sich im C_9-Rest befinden muß, zu einer OH-Gruppe hydriert wurde. Dieser Vermutung widerspricht auch nicht das chromatographische Verhalten dieser Substanz (niedriger R_f-Wert).

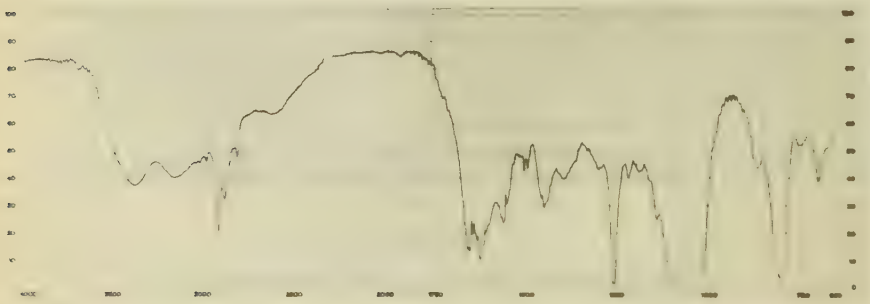


Abb. 21

IR-Spektrum der hydrierten Substanz Gn_{125} (KBr Preßling)

5.3. Optische Drehung der Substanz

Die Flavanone haben ein asymmetrisches Kohlenstoffatom in Stellung 2. Die dadurch bedingte optische Aktivität wurde bei der vorliegenden Substanz geprüft. Gemessen wurde mit zwei verschiedenen Konzentrationen (0,503 g bzw. 0,523 g/ 100 ml Chloroform). In einer 10 cm langen Küvette. Der Mittelwert für $[\alpha]_D^{20^\circ}$ betrug danach $+91,2^\circ$. Bestätigt wird damit, daß die vorliegende Substanz ein optisch aktives Flavanon ist. Interessant ist jedoch, daß die Substanz Gn_{125} positiv dreht.

Alle bisher aus pflanzlichem Material isolierten genuinen Flavanonen besitzen 2S-Konfiguration und zeigen negative Drehung (60). Daraus kann man schließen, daß der C_9-Rest

ebenfalls optisch aktiv ist und positiv dreht; denn nach der Superpositionsregel setzt sich das optische Drehvermögen einer Verbindung aus der algebraischen Summe der Drehungsbeiträge der einzelnen chiralen Gruppierungen in einem Molekül zusammen (66).

5.4. Acetylierung der Substanz und Diskussion der Spektren

Die Substanz konnte mit Pyridin/Eisessig in ein Triacetat überführt werden.

Das UV-Spektrum des Acetates zeigt zwei fast gleichgroße Maxima (λ 263 nm, lg ε 4,04, λ 307 nm, lg ε 4,01)(s.Abb.23). Das NMR-Spektrum zeigt eine Verschiebung des Singuletts bei δ 6,14 ppm um 0,44 ppm nach δ 6,58 ppm. Diese Verschiebung zu niedrigerem Feld entspricht einer Entschirmung des Protons. Eine eindeutige Aussage über die Stellung des Protons im A-Ring läßt sich aus dieser Erscheinung jedoch nicht machen, da kein Vergleichsspektrum eines bekannten Flavanones vorlag. Das Singulett der beiden aliphatischen Protonen bei δ 3,53 ppm ist im Acetatspektrum um 0,17 ppm zu niedrigerem Feld verschoben, während das Signal der 5 aromatischen Protonen um fast den gleichen Betrag zu höherem Feld verschoben wurde, was einer elektronischen Abschirmung gleichkommt.

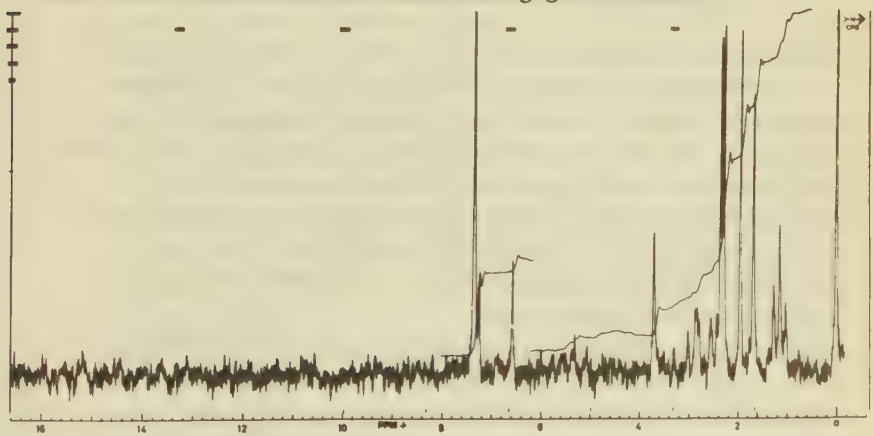


Abb. 22

60MHz-NMR-Spektrum des Acetylderivates von Gn_{125} in $CDCl_3$

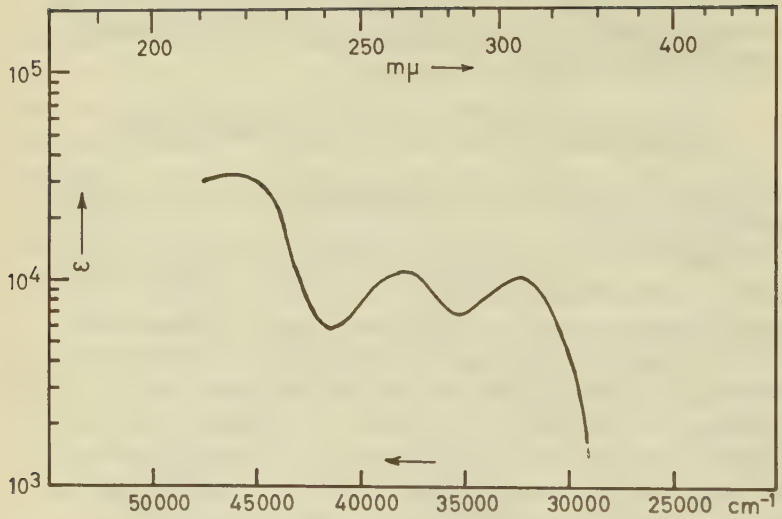


Abb. 23

UV-Spektrum des Acetylderivates von Gn_{125} (in Methanol)

5.5. Methylierung der Substanz und Diskussion der Spektren

Zur weiteren Charakterisierung wurde die Substanz Gn_{125} mit ätherischer Diazomethanlösung methyliert. Chromatographisch (Benzol/Aceton (9:1)) wurde festgestellt, daß sich drei verschiedene Methylprodukte gebildet hatten. Das Gemisch wurde durch präparative DC getrennt.
Aus den Molekülpeaks der Massenspektren geht hervor, daß es sich bei 2_1 (m/e 436) um das Monomethyl-, bei 2_3 (m/e 464) um das Trimethyl- und bei 3_1 (m/e 450) um das Dimethylderivat handeln muß.
Die C=O Valenzschwingung hat sich durch das Methylieren bei 2_1 kaum (1654 cm^{-1}), bei 3_1 um 9 cm^{-1} (1662 cm^{-1}), dagegen bei 2_3 - dem Trimethylderivat - um 57 cm^{-1} zu höherer Wellenzahl verschoben. Die Methylierung der 5-OH hat die Bildung eines 6-Ring-Chelats verhindert und dadurch

eine starke Verschiebung zu höherer Wellenzahl bewirkt.

Lediglich von dem Dimethylderivat 3_1 konnte ein NMR-Spektrum aufgenommen werden. Das vollmethylierte Derivat zersetzte sich bei der Aufnahme und von dem Derivat 2_1 stand nicht genügend Substanz zur Verfügung.
Wegen der geringen Substanzmenge von 3_1 wurde ein 100 MHz Spektrum aufgenommen. Zusätzlich zu den bereits bei der Ausgangssubstanz beschriebenen Systemen und Resonanzen treten hier bei δ 3,51 ppm und δ 3,85 ppm Singuletts auf, die den beiden methylierten OH-Gruppen zuzuordnen sind. Auch bei diesem Spektrum läßt sich das ABX-System nach den bereits erwähnten Formeln leicht berechnen. Das vorliegende Spektrum ist jedoch wesentlich leichter zu berechnen, weil die Banden durch die höhere Feldstärke (100 MHz) weiter auseinandergezogen sind. Eine weitere Vereinfachung wurde durch Doppelresonanz erreicht. Durch Einstrahlung einer Zusatzfrequenz bei 547 Hz wurde die Kopplung der übrigen Kerne mit dem X-Proton aufgehoben und das ABX-System zu einem AB-System vereinfacht (s.Abb.25). Wenn man nun mit Hilfe der Formeln auf Seite 53,54 die Kopplungskonstanten J_{AX} und J_{BX} berechnet und dabei die Werte

$2D_+ = 6 - 2 = 8 - 4$
$2D_+ = 298Hz - 265Hz = 33Hz$
$2D_+ = 314Hz - 282Hz = 32Hz$

$2D_- = 5 - 1 = 7 - 3$
$2D_- = 286Hz - 260Hz = 26Hz$
$2D_- = 303Hz - 378Hz = 25Hz$

$J_{AB} = 3 - 1 = 4 - 2 = 7 - 5 = 8 - 6$
$J_{AB} = 278Hz-260Hz = 18Hz;\ J_{AB} = 303Hz-286Hz = 17Hz$
$J_{AB} = 282Hz-265Hz = 17Hz;\ J_{AB} = 314Hz-298Hz = 16Hz$

$J_{AB} = 17$ Hz

$J_{AX} + J_{BX} = 12 - 9;\ J_{AX} + J_{BX} = 536Hz - 520Hz$

$J_{AX} + J_{BX} = 16$ Hz einsetzt, so ergibt sich:

$$1/2\ (J_{AX} - J_{BX}) = (D_+ + 1/2\ J_{AB})(D_+ - 1/2\ J_{AB})^{1/2} - (D_- + 1/2\ J_{AB})(D_- - 1/2\ J_{AB})^{1/2}$$

$$= (16{,}5+8{,}5)(16{,}5-8{,}5)^{1/2} - (12{,}5+8{,}5)(12{,}5-8{,}5)^{1/2}$$

$$= 200 - 84$$

$$1/2\ (J_{AX} - J_{BX}) = \pm 14{,}14 - 9{,}16$$

$$= +4{,}98\ \text{Hz};\ -23{,}3\ \text{Hz}$$

Die Richtigkeit des Wertes $1/2\ (J_{AX} - J_{BX}) = 4{,}98$ Hz ergibt sich aus dem Vergleich der nachfolgend berechneten Werte mit den Meßwerten des Spektrums (s.Abb.25).

$$J_{AX} - J_{BX} = 9{,}96\ \text{Hz}$$

$$+\ J_{AX} + J_{BX} = 16{,}0\ \text{Hz}$$

$$2\ J_{AX} = 25{,}96\ \text{Hz}$$

$$J_{AX} = 12{,}94\ \text{Hz} \approx 13\ \text{Hz}$$

$$J_{BX} = 16\ \text{Hz} - 12{,}94\ \text{Hz}$$

$$J_{BX} = 3{,}06\ \text{Hz} \approx 3\ \text{Hz}$$

Aus dem durch Doppelresonanz vereinfachten Spektrum (s.Abb.24) wird die chemische Verschiebung für das A- und B-Proton folgendermaßen berechnet:

$$S = \frac{\nu_2 + \nu_3}{2}$$

$$S = \frac{280\text{Hz} + 291\text{Hz}}{2} = 285{,}5\ \text{Hz} \quad 285\ \text{Hz}$$

$$\nu_A = 285\ \text{Hz} + 1/2\sqrt{(\nu_4 - \nu_1)(\nu_3 - \nu_2)}$$

$$\nu_A = 285\ \text{Hz} + 1/2\sqrt{(309\text{Hz} - 262\text{Hz})(291\text{Hz} - 280\text{Hz})}$$

$$\nu_A = 285\ \text{Hz} + 1/2\sqrt{517\ \text{Hz}}$$

$$\underline{\nu_A = 296{,}3\ \text{Hz}}$$

$$\nu_B = 285\ \text{Hz} - 1/2\sqrt{(\nu_4 - \nu_1)(\nu_3 - \nu_2)}$$

$$\nu_B = 285\ \text{Hz} - 11{,}35\ \text{Hz}$$

$$\underline{\nu_B = 273{,}6\ \text{Hz}}$$

Die chemische Verschiebung für das X-Proton berechnet sich wie folgt:

$$\nu_X = \frac{\nu_9 + \nu_{12}}{2} = \frac{\nu_{10} + \nu_{11}}{2}$$

$$\nu_X = \frac{522\text{Hz} + 536\text{Hz}}{2} = \frac{525 + 533}{2}$$

$$\nu_X = 529\ \text{Hz}$$

Bei einem Vergleich der Kopplungskonstanten und der chemischen Verschiebung dieses Spektrums mit denen der Ausgangssubstanz, zeigt es sich, daß sie nicht völlig identisch sind. Der Grund dafür liegt möglicherweise in einer veränderten Elektronenverteilung, die durch die Methylierung hervorgerufen wurde.

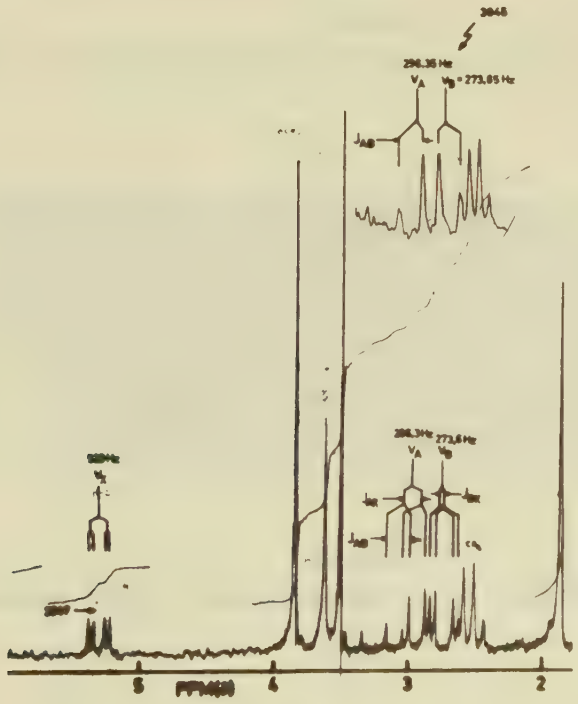


Abb. 24

Ausschnitt aus dem 100MHz-NMR-Spektrum des Gn_{125}-dimethyläthers (3_1) in $CDCl_3$

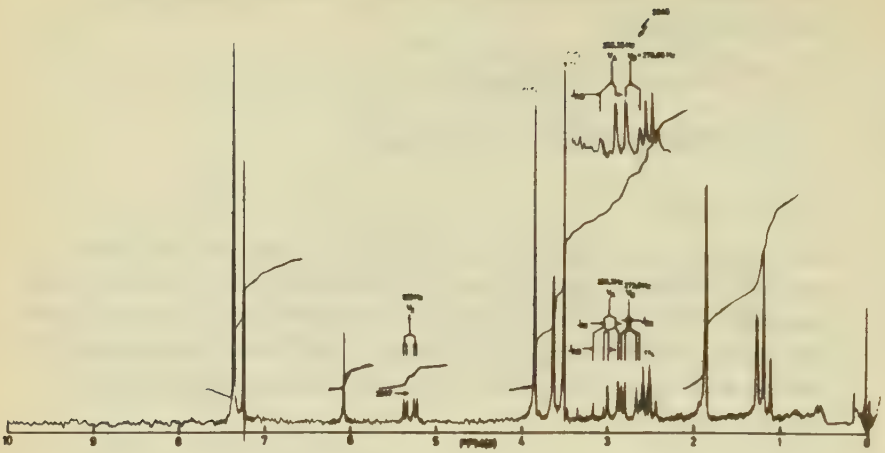


Abb. 25

100 MHz-NMR-Spektrum des Gn_{125}-dimethyläthers (3_1) in $CDCl_3$

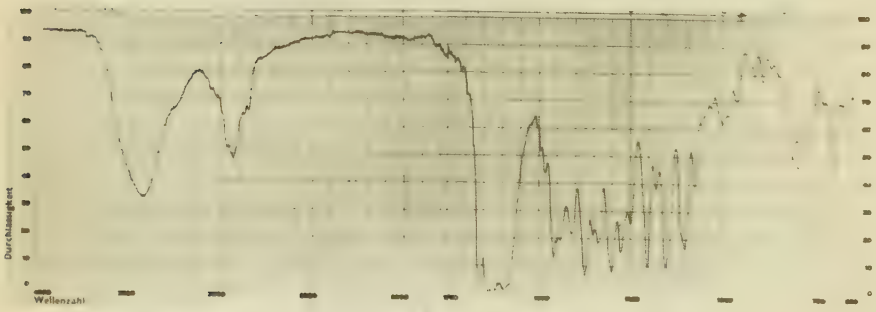


Abb. 26

IR-Spektrum des Gn_{125}-dimethyläthers (3_1) KBr Preßling

Wegen der geringen Substanzmenge konnten keine weiteren chemischen und spektroskopischen Untersuchungen durchgeführt werden. Von der noch vorhandenen Substanzmenge wurden aus Aceton Einkristalle gezüchtet und zur Röntgenstrukturanalyse geschickt.

VI Experimenteller Teil

1. Extraktion der Droge

13,5 kg der Droge Gnaphalium obtusifolium wurden in geschnittener Form aus Amerika von der Fa. Penick im Sommer 1968 bezogen. Die gesamte Menge wurde fein gemahlen und in Portionen zu 500 g in einem Soxhlet mit 5 l Petroläther (Kp 40-60°) erschöpfend extrahiert. Der Extrakt wurde bis auf 250 ml eingeengt und dann 6 mal mit je 100 ml 60% Äthanol ausgeschüttelt. Die äthanolisch-wässerigen Fraktionen wurden vereinigt und bis auf die wässerige Phase in einem Vakuumumlaufverdampfer eingeengt. Die wässerige Phase wurde 6 mal mit Chloroform ausgeschüttelt. Die Chloroformphase wurde über Natriumsulfat getrocknet und schließlich unter vermindertem Druck zur Trockne eingeengt.

2. DC-Chromatographie der Chloroformausschüttelung

Chromatographiert wurde der Auszug auf Kieselgel HF 254 (Merck) in dem Laufmittel Benzol/Aceton (9:1). Neben den Stoffen Gn_2 (Rf 0,85) und dem Gnaphaliin (Gn) (Rf 0,36) wurden auch noch Gn_3 (Rf 0,24); Gn_{125} (Rf 0,48) gefunden. Beim Besprühen mit 1% methanol. $FeCl_3$-Lösung wurden folgende Farben erhalten: Gn_2 (Rf 0,85) - grün; Gn (Rf 0,36) - grün; Gn_3 (Rf 0,24) - bräunlich-grün; Gn_{125} (Rf 0,48) - blau-violett.

3. Isolierung der Substanzen Gn und Gn_2, Gn_3, Gn_{125}

48,6 g Chloroformextrakt wurden in Portionen zu 16,2 g durch Säulenchromatographie an Kieselgel weiter aufgetrennt. Die Säule wurde in folgender Weise bereitet: Ein Chromatographierohr(Ø 4,5 cm) wurde mit einer Kieselgelaufschlämmung (600,0 Kieselgel "Merck", Korngröße 0,05-0,2 mm) in Benzol/Aceton (95:5) beschickt. Die Schichthöhe betrug nach dem Absetzen 80 cm. Der Extrakt wurde in 20 ml Benzol/Aceton (95:5) gelöst und auf die Säule aufgetragen. Entwickelt und eluiert wurde ebenfalls mit einer Mischung aus Benzol/Aceton (95:5). Das

Eluat wurde in Fraktion zu 15 ml aufgefangen. Dabei wurde eine Tropfgeschwindigkeit von 15 ml in 15 Min. gewählt. Der Verlauf von 500 ml wurde verworfen. Die nach dc-chromatographischer Prüfung (auf Kieselgel HF 254, Merck; Laufmittel: Benzol/Aceton (9:1)) einheitlichen Fraktionen wurden vereinigt und eingeengt. Aus der Fraktion, die Gn enthielt, kristallisierte die Substanz nach mehrtägigem Stehen in gelb-orange Tafeln aus. Aus 48,6 g Chloroformextrakt wurden 0,45 g reines Gnaphaliin erhalten. (Schmp. 174-175°).

Beim Einengen der Fraktionen mit Gn_2 fiel bereits ein Gemisch von mehreren Substanzen aus. Durch Waschen des Niederschlages auf dem Filter mit Benzol/Aceton (9:1) wurde Gn_2 relativ rein als stark verfilzte gelbe Nadeln erhalten. Die Ausbeute für Gn_2 betrug 0,2 g. (Schmp. 174-176°).

Alle Fraktionen, die dc-chromatographisch geprüft die Substanz Gn_{125} enthielten, wurden vereinigt und eingeengt. Das ausgefallene Stoffgemisch wurde abgesaugt und dann tropfenweise mit kaltem Aceton digeriert, bis die braunen Begleitsubstanzen herausgewaschen waren. Auf dem Filter verblieb die Substanz Gn_{125} als weiße Nadeln. Die Ausbeute betrug 0,1 g. (Schmp. 202-204°).

Die letzten Eluatfraktionen enthielten neben nicht näher identifizierten Substanzen die Hauptmenge an Gn_3 (Rf 0,24). Nach dem Einengen der Fraktionen hinterblieb ein gelbbrauner Rückstand, der in wenig heißem Methanol 80%ig gelöst wurde. Nach einiger Zeit fielen Kristalle aus, die auf einer Filternutsche gesammelt wurden. Durch Umkristallisieren dieser Kristalle aus Methanol 80%ig wurden 0,15 g Gn_3 mit einem Schmelzpunkt von 193-195° erhalten.

4. Eigenschaften von Gnaphaliin (Gn)

Zusammensetzung:

$C_{17}H_{14}O_6$ (314,6)

Ber. C 64,97 H 4,49

Gef. C 65,02 H 4,66

Schmp. 174-175° (Kofler-Heiztischmikroskop)

Reduktionsprobe (Shinoda) (52)
1 mg der Verbindung Gn wurde in einigen Tropfen Methanol auf einer Tüpfelplatte gelöst und mit Magnesiumpulver und konz. Salzsäure versetzt. Die Farbe der Lösung veränderte sich dabei nicht.

UV-Absorption: (in Methanol c = 0,37 mg / 25 ml)

λ 238 nm (lg ε 3,92) Inflexion; λ 272 nm (lg ε 4,40); λ 357 nm (lg ε 3,79).

a) UV-Absorption + Na-acetat, nicht gesättigt,*1 in Methanol, λ 272 nm, $\Delta\lambda_{max}$ 0nm.

b) UV-Absorption + Na-Acetat, gesättigt,*2 in Methanol, λ 284 nm, $\Delta\lambda_{max}$ 12 nm.

IR-Absorption (1,2 mg / 150 mg KBr)
690 s, 715 w, 750 sh, 775 s, 805 s, 820 w, 855 w, 935 m, 945 sh, 990 s, 1000 w, 1020 s, 1035 w, 1070 m, 1082 m, 1150 s, 1170 s, 1190 sh, 1223 s, 1292 m, 1309 m, 1320 m, 1362 s, 1410 m, 1440 m, 1450 sh, 1455 sh, 1485 w, 1498 sh, 1505 s, 1560 sh, 1570 s, 1600 m, 1645 s, 2840 w, 2920 m, 2990 w, 3040 w, 3060 w, 3270 s.

NMR: δ 3,95 s, 3 H (aromat. OCH_3); δ 4,0 s, 3 H (aromat. OCH_3); δ 6,4 s 1 H (aromat. H); δ 7,5 m, δ 8,2 m (A_2B_3-System); δ 12,4 s 1 H (austauschbar mit D_2O).
Vergleich der NMR-Spektren des C-5-OH-Derivates mit dem entsprechenden C-5-$OCOCH_3$-Derivat: Das Singulett bei δ 6,4 ppm wird um 0,28 ppm nach tieferem Feld verschoben. Damit konnte das Singulett bei δ 6,4 dem Proton in 6-Stellung des A-Ringes zugeordnet werden.

Massenspektrum: 314 (M), 299, 285, 271, 256, 228, 157, 139, 118, 115, 111, 105, 89, 77, 69, 59, 51, 45, 31.

4.1. Alkalispaltung des Gn

5 mg Gn wurden in 5 ml 10%iger äthanolischer Kalilauge gelöst und 2 Std. lang unter Stickstoff am Rückfluß gekocht. Dann wurde ein Teil des Alkohols bei fortgesetzter

---

*1 Die Lösung war klar filtriert
*2 Die Lösung enthielt noch ungelöstes Na-Acetat. c = 5,0 g wasserfreies Na-acetat/100 ml Methanol

Stickstoffeinleitung abdestilliert, der Rest mit 15 ml Wasser verdünnt. Die wässerige Lösung wurde mit 2 n Schwefelsäure angesäuert und 5 mal mit je 5 ml Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten Ätherphasen wurden durch Ausschütteln mit kleinen Portionen Wasser von der Schwefelsäure befreit, mit Natriumsulfat getrocknet, auf 2 ml eingeengt und chromatographiert.
Vergleichschromatographie des Spaltproduktes mit Benzoesäure als authentischer Substanz.
Adsorbens: Kieselgelfertigplatten (Merck)
Laufmittel: (I) Benzol/Essigester (100:15; v/v)
(II) Benzol/Dioxan/Eisessig (90:25:4; v/v)

	Rf (I)	Rf (II)	unbesprüht	$FeCl_3/H_2O_2$ Reagens (56)
Benzoesäure	0,1	0,7	-	braun
Spaltprodukt	0,1	0,52	hellblaue* Fluoreszens	-
Ausgangsprodukt	0,57	0,75	gelb**	braun-grün

* Unter der Analysenquarzlampe bei λ 354 nm betrachtet
** Bei Tageslicht

4.2. Überführung von Gn in Gn-monomethyläther

Methylierung von Gn

2,14 g N-(Tolysulfonyl-4-)-N-methyl-mitrosamid wurden in 30 ml wasserfreiem Äther gelöst. Zur eisgekühlten Lösung wurden 10 ml 4%iger methanolischer Kalilauge langsam hinzugegeben. Nach 5 Min. wurde die methanolische Diazomethanlösung auf dem Wasserbad in eine mit 25 ml Äther gefüllte eisgekühlte Vorlage überdestilliert. 25 ml der Diazomethanlösung wurden nun zu einer Lösung von 5 mg Gn in 5 ml eines Gemisches Äther-Methanol gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 2 Tage lang bei -4° aufbewahrt. Der Verlauf der

Methylierung wurde chromatographisch verfolgt. (Kieselgel HF 254, Laufmittel Benzol/Aceton 9:1 v/v). Nach 2 Tagen wurde das Lösungsmittel am Vakuumumlaufverdampfer abgezogen. Hellgelbe Nadeln (4,8 mg) vom Schmp. 173-175°.

4.3. Acetylierung von Gn

10 mg Gn wurden in 1 ml Pyridin gelöst, die eisgekühlte Lösung mit 1 ml frisch destilliertem Acetanhydrid versetzt und 24 Std. lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Danach wurde das Reaktionsgemisch in 10 ml Eiswasser gegossen. Der Niederschlag wurde nach 3 Std. abgesaugt und mit Eiswasser gewaschen. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Methanol (PA) wurden 8,9 mg des Gn-Diacetats als weiße Kristallnadeln vom Schmp. 135-138° erhalten.

5. Eigenschaften von Gn_2

$C_{18}H_{16}O_6$ (328)

Ber. C 65,91; H 4,92
Gef. C 65,79; H 5,28

Schmp. 174-176° (Kofler-Heiztischmikroskop)

UV-Absorption: (c = 0,186 mg / 10 ml Methanol)
λ_{max} 272 nm (lg ε 4,51); λ_{max} 357 nm (lg ε 3,91)

IR-Absorption: (1,13 mg/150 g KBr)
685 s, 730 w, 750 w, 770 sh, 780 s, 800 s, 820 w, 835 m, 915 s, 945 s, 980 s, 995 s, 1010 s, 1035 sh, 1040 s, 1075 w, 1095 m, 1110 s, 1145 w, 1175 s, 1185 s, 1215 s, 1230 s, 1265 s, 1295 m, 1308 m, 1320 m, 1350 s, 1380 s, 1405 w, 1435 sh, 1445 s, 1455 sh, 1475 w, 1492 w, 1512 s, 1538 sh, 1565 w, 1585 s, 1602 s, 1662 s, 2842 m, 2920 s, 2930 sh, 2960 w, 2990 m, 3050 w, 3065 w.

Massenspektrum: 328, 313, 299, 295, 285, 283, 269, 241, 181, 164, 153, 135, 129, 125, 118, 115, 105, 77, 69, 40.

Eutektika: (Kofler-Heiztischmikroskop)
Gn_2 + Phenazetin 129°, Gn-monomethyläther + Phenazetin 129°, Gn_2 + Benzanilid 147°, Gn-monomethyläther + Benzanilid 146°.

5.1. Alkalispaltung

Durchführung wie unter 4.1.
Vergleichschromatographie der Spaltprodukte mit Benzoesäure und 2,6-Dihydroxy-ω-3,4-trimethoxyacetophenon.
Adsorbens: Kieselgelfertigplatten (Merck)
Laufmittel: (I) Benzol/Essigester (100:15; v/v)
(II) Benzol/Dioxan/Eisessig (90:25:4; v/v)

	Rf (I)	Rf (II)	$FeCl_3/H_2O_2$ Reagens (4)
Benzoesäure	0,1	0,7	braun
Spaltprodukt I	0,1	0,7	braun
2,6-Dihydroxy-3,4-trimethoxy-acetophenon	0,29	0,61	braun
Spaltprodukt II	0,29	0,61	braun
Ausgangsprodukt	0,57	0,75	braun

5.2. Oxydation zum 3,7-Dimethoxy-5,8-chinoflavon (5)
(als Nachweis der 5,8-Disubstitution)

30 mg des methylierten Gn wurden in 2 ml Chloroform gelöst. Die Lösung wurde unter Eiskühlung und unter starkem Rühren mit 15 Tr konzentrierter Salpetersäure versetzt (ca.0,58 g). Die weinrote Lösung wurde noch 20 Min. lang gerührt. Danach wurde die Lösung mehrmals mit wässerigem Natriumkarbonat gewaschen. Die Chloroformphase wurde über Natriumsulfat getrocknet und schließlich abgezogen. Beim Umkristallisieren aus Äthanol rote Nadeln vom Schmp. 208-217°. Von 1 mg dieser Substanz wurde ein Massenspektrum aufgenommen. 312, 283, 269, 129, 105, 89, 77, 67.

5.3. Synthese von Gn-monomethyläther

Die Synthese wurde über die folgenden Zwischenstufen durchgeführt. 5,7-Dihydroxy-3- methoxyflavon (I) (nach Allan-Robinson (49)) modifiziert nach Hänsel u. Schulz (51). 4,5 g (0,02 Mol) Benzoesäureanhydrid wurden zusammen mit 4,0 g (0,02 Mol) ω -Methoxy-2,4,6-trihydroxyacetophenon (54) und 0,5 g Kaliumcarbonat in 50 ml N-Dimethylformamid 1 Std. lang am Rückflußkühler gekocht. Danach wurde die abgekühlte gelbe Lösung in Wasser gegeben. Nach ca. 2 Std. wurde der bereits ausgefallene Niederschlag abgesaugt. Das Filtrat wurde mit Essigsäure bis zum Neutralpunkt versetzt und der dabei ausgefallene Niederschlag wurde erneut gesammelt. Die vereinigten Niederschläge ergaben 4,8 g Rohprodukt (DC einheitlich*). Nach dem Umkristallisieren aus Essigester-Äthanol (1:3) Schmp. 297-298°.

5,8-Dihydroxy-3,7-dimethoxyflavon (II) (55)

1,0 g (I) wurde in Aceton gelöst und mit ätherischer Diazomethanlösung versetzt. Das auf diese Weise erhaltene (I) Methylderivat wurde ohne weitere Reinigung in 20 ml Pyridin und 25 ml 4% KOH gelöst. In dieser Lösung wurde gleichzeitig unter Rühren 100 ml einer 2% $K_2S_2O_8$-Lösung und 25 ml einer KOH-Lösung zugetropft. Die Tropfgeschwindigkeit wurde so eingestellt, daß beide Lösungen nach 2 Std. zugetropft waren. Das Reaktionsgemisch wurde über Nacht stehengelassen, dann mit verdünnter HCl gegen Kongorot neutralisiert und 2 mal mit Äther extrahiert. Die wässerige Lösung wurde mit 2,0 Na_2SO_3 und 20 ml HCl conc. versetzt und 30 Min. auf dem Wasserbad erhitzt. Der gelbe kristalline Niederschlag wurde abgesaugt und mit Wasser gewaschen. Nach dem Kristallisieren aus Essigester 0,2 g gelbe, rechteckige Plättchen, Schmp. 221-223°.

---

* Kieselgel HF 254, Merck, Laufmittel: Benzol/Aceton 9:1

5-Hydroxy-3,7,8-trimethoxyflavon (Gn-monomethyläther)

II wurde in Methanol gelöst und mit ätherischem Diazomethan versetzt. Nach dem Umkristallisieren aus Essigester:Äthanol entstanden gelbgefärbte Kristallnadeln vom Schmp. 176-178°.

5.4. Vergleichschromatographie des natürlichen Gn_2 mit synthetischem Gn_2 und Gn-monomethyläther

Adsorbens: (I), (II) Kieselgel HF 254, Merck,
(III) Perlon

Laufmittel: (I) Benzol/Dioxan/Eisessig (90:25:4; v/v)
(II) Benzol/Essigester (70:30; v/v)
(III) Benzol/Methanol/H_2O (30:60:10 v/v)

	Rf (I)	Rf (II)	Rf (III)	$FeCl_3$ 1% methanol.
Gn_2 synth.	0,91	0,94	0,62	grün
Gn_2	0,91	0,94	0,62	grün
Gn-monomethyl-äther	0,91	0,94	0,62	grün

IR-Überlagerungsspektren: (Gn_2 nat. 1,24 mg/150 mg KBr; Gn_2 synth. 1,13 mg/150 mg KBr)

685 s, 730 w, 750 w, 770 sh, 780 s, 800 s, 820 w, 835 m, 915 s, 945 s, 980 s, 995 s, 1010 s, 1035 sh, 1040 s, 1075 w, 1095 m, 1110 s, 1145 w, 1175 s, 1185 s, 1215 s, 1230 s, 1265 s, 1295 m, 1308 m, 1320 m, 1350 s, 1380 s, 1405 w, 1435 sh, 1445 s, 1455 sh, 1475 w, 1492 w, 1512 s, 1538 sh, 1565 w, 1585 s, 1602 s, 1662 s, 2842 m, 2920 s, 2930 sh, 2960 w, 2990 m, 3050 w, 3065 w.

6. Eigenschaften von Gn_3

Zusammensetzung:

$C_{17}H_{14}O_3$ (330)

Ber. C 61,87 H 4,24 Schmp. 193-195°
Gef. C 61,44 H 4,21 (Kofler-Heiztischmikroskop)

Reduktionsprobe (Shinoda)
Durchführung wie unter 4.
Die Farbe der Lösung veränderte sich dabei nicht.
Bildung eines Zirkonylchloridkomplexes.
0,5-1,0 mg der Verbindung Gn_3 wurden in 10 ml Methanol gelöst. Dieser Lösung wurden 1 ml 2%iger methanolischer Zirkonylchloridlösung hinzugefügt. Hierauf wurde die orangegelbe Lösung mit 1 ml einer 2%igen methanolischen Zitronensäurelösung versetzt und mit destilliertem Wasser auf ein Endvolumen von 50 ml gebracht. Die Lösung entfärbte sich nicht (32).

UV-Absorption: (c = 0,18 mg / 10 ml Methanol)
λ_{max}277 nm (lgε 4,31); λ_{max}323 nm (lgε 4,06);
λ_{max}370 nm (lgε 3,97).

a) UV-Absorption + Na-acetat gesättigt (c = 5,0 g wasserfreies Na-acetat/100 ml Methanol).
Es wurden 1 ml der Reagenzlösung mit 2 ml der Stammlösung des Flavonoids (0,55 mg/10 ml Methanol) auf 10 ml verdünnt und nach 10 Min. gemessen.

λ_{max}285 nm; $\Delta\lambda_{max}$8 nm
λ_{max}392 nm; $\Delta\lambda_{max}$67 nm

b) UV-Absorption + Aluminiumchlorid (c = 2,5 g Aluminiumchlorid/100 ml Methanol).
Es wurden 2 ml der Reagenzlösung und 2 ml der Stammlösung - s. unter a) - gemischt, auf 10 ml aufgefüllt und nach 10 Min. gemessen.

(infl.) 255 nm
λ_{max}285 nm; $\Delta\lambda_{max}$8 nm
λ_{max}257 nm; $\Delta\lambda_{max}$34 nm
λ_{max}429 nm; $\Delta\lambda_{max}$41 nm

IR-Absorption: (1,14 mg/150 mg KBr)
690 s, 745 w, 768 s, 780 s, 790 s, 843 w, 875 s, 920 w, 935 s, 990 s, 1030 sh, 1040 s, 1060 w, 1079 m, 1093 m, 1110 sh, 1150 w, 1185 s, 1195 s, 1205 s, 1220 sh, 1295 sh, 1310 s, 1325 s, 1395 s, 1425 s, 1450 w, 1460 w, 1468 w,

1475 w, 1495 sh, 1500 w, 1510 w, 1555 sh, 1560 s, 1600 m, 1620 m, 1645 sh, 1650 s, 1655 w, 2840 w, 2920 s, 2990 w, 3040 w, 3330 s, 3420 s.

Massenspektrum: 330 (M), 315, 301, 297, 287, 272, 244, 215, 197, 165, 142, 131, 105, 77, 69, 40.

NMR-Spektrum: δ 4,03 s, 3 H (aromat. OCH_3); δ 4,06 s, 3 H (aromat. OCH_3); δ 6,48 s, 1 H; δ 6,72 s, 1H; δ 7,5 m, δ 8,23 m, (A_2B_3-System); δ 11,62 s, 1 H.

7. Eigenschaften von Gn_3-Dimethyläther

Überführung von Gn_3 in Gn_3-dimethyläther wie unter 4.2.
Schmp. 99-100° (Kofler-Heiztischmikroskop)
Mischschmelzpunkt mit 5-Hydroxy-3,6,7,8-tetramethoxyflavon: 98-101°.

UV-Absorption: (c = 0,17 mg/10 ml Methanol)
λ_{max} 280 nm (lg ε 4,51); λ_{max} 312 nm (lg ε 4,1);
λ_{max} 354 nm (lg ε 3,82).

UV-Absorption + Aluminiumchlorid:
Durchführung wie unter 6 b)
λ_{max} 298 nm, $\Delta\lambda_{max}$ 18 nm
λ_{max} 341 nm, $\Delta\lambda_{max}$ 29 nm
λ_{max} 427 nm, $\Delta\lambda_{max}$ 73 nm

IR-Spektrum: (1,24/150 mg KBr)

670 sh, 683 s, 755 sh, 770 m, 775 s, 790 m, 802 s, 840 w, 882 w, 918 s, 950 s, 970 s, 995 w, 1000 s, 1036 w, 1042 s, 1079 m, 1098 w, 1110 m, 1140 m, 1178 s, 1186 w, 1205 s, 1223 m, 1272 s, 1290 w, 1300 w, 1311 w, 1350 w, 1370 s, 1393 m, 1420 m, 1440 m, 1460 m, 1475 s, 1495 sh, 1530 sh, 1546 w, 1550 m, 1570 sh, 1578 s, 1590 sh, 1640 s, 2825 m, 2920 s, 2970 w, 3040 m, 3410 s.
Das Spektrum wurde mit dem Spektrum des 5-Hydroxy-3,6,7,8-tetramethoxyflavons verglichen. Beide Spektren stimmen in dem Bereich von 650 - 2000 überein.

8. Eigenschaften von Gn_{125}

Zusammensetzung:

$C_{24}H_{22}O_7$ (422,4)

Ber. C 68,24 H 5,25

Gef. C 68,04 H 5,54

Schmp. 202-206°

Reduktionsprobe (Shinoda)

Durchführung siehe 4.
Die Farbe der Lösung veränderte sich nicht.
Farbreaktionen: (53)

Reagenz	Gn_{125}
HNO_3 65%	violett
H_2SO_4 konz.	gelb
$FeCl_3$ 1% methanol.	blau-violett

UV-Absorption: (c = 0,23/10 ml Methanol)

λ_{max} 293 nm (lg ε 4,38)

Mit Na-acetat erfolgte eine bathochrome Verschiebung der Bande bei λ 293 nm um 2 nm. Mit Aluminiumchlorid wurde λ 293 nm um 22 nm bathochrom verschoben. Außerdem trat ein zusätzliches Maximum bei λ 389 nm auf.

IR-Spektrum: (1,65 mg/150 mg KBr)
705 s, 720 sh, 760 sh, 770 s, 780 sh, 795 sh, 830 w, 840 w, 855 sh, 882 m, 925 m, 975 s, 1000 w, 1030 sh, 1040 sh, 1060 sh, 1070 s, 1072 sh, 1120 w, 1155 sh, 1169 s, 1190 w, 1217 m, 1245 sh, 1265 s, 1303 s, 1318 m, 1332 m, 1365 sh, 1380 m, 1400 sh, 1425 sh, 1432 sh, 1445 sh, 1452 s, 1455 sh, 1465 sh, 1490 w, 1500 w, 1538 sh, 1542 sh,

1545 sh, 1558 s, 1562 sh, 1586 w, 1603 sh, 1610 sh, 1620 s, 1630 s, 1648 s, 1653 s, 2609 m, 2740 w, 2820 sh, 2840 w, 2920 m, 2960 m, 3020 w, 3049 w, 3079 w, 3422.s, 3400 sh.

Massenspektrum:

422 (M), 404, 393, 365, 345, 337, 318, 309, 290, 269, 256, 234, 179, 165, 152, 97, 83, 77, 73, 69, 57, 55, 43, 29.

NMR-Spektrum:

δ 1,16 tripl. (3 aliphat. H); δ 1,86 s (3 aliphat. H); δ 2,83 quadr.; δ 3,23 quadr. (2 aliphat. H, AB-Teil des ABX-Systems); δ 3,53 s (2 H aliphat.); δ 5,52 dopp.Dubl. (X-Teil des ABX-Systems); δ 6,14 s (1 H aromat.); δ 7,5 s (5 aromat. H); δ 8,03 s (1 H, OH); δ 10,5 s (1 H, OH); δ 11,8 s (1 H, OH).

Alle drei Singuletts (von 8 - 12 ppm) sind mit D_2O austauschbar.

8.1. Optische Drehung:*

Es wurde mit zwei verschiedenen Konzentrationen gemessen:

1. 0,502 g/100 ml Chloroform
   $\alpha_1 = + 0{,}455$
2. 0,523 g/100 ml Chloroform
   $\alpha_2 = + 0{,}477$

Die nach der Formel $[\alpha]_D^{20^\circ} = \frac{\alpha \cdot 1000}{\rho \cdot d}$ berechneten Werte für die spezifische Drehung ergaben:

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = + 91^\circ$$

$$[\alpha]_D^{20^\circ} = + 91{,}4^\circ$$

8.2. Acetylierung von Gn_{125}

30,3 mg Gn_{125} wurden in 1,5 ml Pyridin gelöst. Die eisgekühlte Lösung wurde mit 1,5 ml frisch destilliertem Acetanhydrid versetzt und 24 Std. lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Danach wurde das Reaktionsgemisch in 15 ml

---

* Lichtelektr.Präzisionspolarimeter 0,005° (Zeiss)

Eiswasser gegossen. Der Niederschlag wurde nach 3 Std. abgesaugt und mit Eiswasser gewaschen. Nach einmaligem Umkristallisieren aus Methanol (PA) wurden 21,3 mg Gn_{125}-triacetat vom Schmp. 164-170° erhalten.

NMR-Spektrum:

δ1,15 tripl. (3 aliphat. H); δ1,68 s (3 aliphat H); δ1,93 s (3 aliphat. H); δ2,25 s (3 aliphat. H); δ2,3 s (3 aliphat. H); δ3,7 s (2 aliphat. H); δ6,58 s (1 aromat.H); δ7,33 s (5 aromat. H).
Die Multipletts des ABX-Systems sind noch zu erkennen, aber der Schwerpunkt kann nicht lokalisiert werden. Das zu dem Triplett bei δ1,15 gehörige Quadruplett liegt zum Teil unter den Signalen der Acetylgruppen.

UV-Spektrum von Gn_{125}-acetat: (c = 0,21 mg/10 ml Methanol)

λ_{max} 262 nm (lg ε 4,04); λ_{max} 308 nm (lg ε 4,02).

8.3. Methylierung von Gn_{125}

82,6 mg Gn_{125} wurden in 20 ml Aceton/Methanol (50:50) gelöst und mit ca. 24 ml ätherischer Diazomethanlösung versetzt. (Darstellung von Diazomethan s. 4.2.). Die Lösung war schwach gelb gefärbt. Die Reaktionsmischung wurde 24 Std. lang im Kühlschrank aufbewahrt. Danach wurde das Lösungsmittel am Vakuumumlaufverdampfer abgezogen und dc-chromatographisch geprüft (Benzol/Aceton (9:1), Kieselgel HF 254, Merck). Dabei wurde ein Gemisch von 3 Methylprodukten festgestellt, die folgende Rf-Werte hatten: 2_1 (Rf = 0,72); 2_3 (Rf = 0,77); 3_1 (Rf = 0,08). Das Gemisch wurde durch präparative Schichtchromatographie (Schichtdicke 1 mm) an Kieselgel im System Benzol/Aceton (9:1) (2 mal entwickelt) getrennt. Die getrennten Produkte wurden mit heißem Methanol vom Kieselgel eluiert. Die Ausbeuten betrugen: 2_1 = 10,8 mg, 2_3 = 21,6 mg, 3_1 = 14,2 mg.

8.4. Eigenschaften von 2_1

Schmp. 232-236°

Massenspektrum: 436 (M), 403, 365, 347, 335, 309, 304, 275, 273, 269, 261, 255, 243, 231, 205, 193, 181, 177, 165, 152, 131, 113, 103, 91, 83, 69, 57, 55, 43, 41, 29.

IR-Spektrum: (1,35 mg/150 mg KBr)
698 s, 722 m, 753 sh, 765 w, 795 s, 832 sh, 860 sh, 890 w, 913 m, 952 m, 985 sh, 995 sh, 1010 w, 1025 w, 1045 w, 1065 sh, 1075 w, 1085 sh, 1112 m, 1140 s, 1168 s, 1205 s, 1255 sh, 1275 s, 1303 s, 1340 s, 1360 w, 1372 s, 1428 s, 1448 w, 1455 sh, 1462 w, 1472 w, 1492 w, 1508 sh, 1512 sh, 1525 sh, 1530 w, 1540 w, 1550 sh, 1580 w, 1590 w, 1608 sh, 1613 sh, 1625 w, 1635 w, 1655 m, 2580 w, 2598 w, 2740 w, 2850 w, 2920 m, 2950 w, 2965 sh, 3025 w, 3060 m, 3430 s.

8.5. Eigenschaften von 2_3

Der Schmelzpunkt zog sich über einen längeren Intervall, obwohl die Substanz chromatographisch rein war. Die Hauptmenge der Substanz schmolz jedoch bei ca. 60°.

NMR-Spektrum:
Aus dem NMR-Spektrum konnten keine Informationen entnommen werden, da sich die Substanz bei der Aufnahme zersetzte.

Massenspektrum:
Die Substanz zeigte einen Massenpeak bei 464. Von dem Derivat wurde nur ein Massenspektrum im Gemisch mit den übrigen Methylderivaten aufgenommen. Die Bruchstücke konnten deshalb nicht genau festgelegt werden.

IR-Spektrum: (1,33 mg/150 mg KBr)
668 m, 695 s, 673 w, 682 w, 750 sh, 762 m, 795 w, 802 w, 830 sh, 848 w, 857 w, 882 m, 900 sh, 910 w, 923 w, 960 sh, 980 sh, 997 m, 1008 w, 1035 w, 1055 sh, 1073 m, 1105 s, 1152 s, 1182 w, 1202 s, 1230 m, 1270 s, 1300 s, 1335 sh, 1355 sh, 1370 w, 1380 m, 1442 s, 1460 w, 1480 sh, 1495 w, 1503 w, 1515 w, 1520 sh, 1530 sh, 1553 w, 1560 m, 1583 m, 1612 sh,

1620 sh, 1630 w, 1640 w, 1650 sh, 1660 sh, 1697 sh, 1702 sh, 1710 s, 1720 sh, 1840 w, 2920 s, 2950 sh, 3020 w, 3050 w, 3430 w.

8.6. Eigenschaften von 3_1

Schmp. 168-171°

Massenspektrum: 450 (M), 435, 419, 401, 393, 379, 373, 361, 349, 331, 323, 313, 299, 289, 287, 283, 275, 269, 257, 245, 231, 225, 219, 205, 191, 182, 181, 179, 173, 131, 123, 113, 103, 91, 83, 77, 69, 57.

NMR-Spektrum: δ 1,2 tripl. 3 H (aliphat. CH_3); δ 1,87 s 3 H (aliphat. CH_3); δ 2,53 quadr. 2 H (aliphat. CH_2-); δ 2,61 bis δ 3,14 m 2 H; δ 3,51 s 3 H (aromat. OCH_3); δ 3,85 s 3 H (aromat. OCH_3); δ 5,3 depp.Dubl. 1 H ; δ 6,08 s 1 H (aromat. H); δ 7,36 s 5 H (aromat. H).

IR-Spektrum: (1,43 mg/150 mg KBr)

652 m, 698 s, 724 w, 768 s, 792 w, 810 m, 830 sh, 850 sh, 868 w, 890 m, 912 m, 925 sh, 960 m, 980 w, 990 sh, 1000 w, 1005 sh, 1029 w, 1045 sh, 1055 w, 1072 s, 1095 sh, 1100 s, 1110 sh, 1145 sh, 1150 s, 1180 m, 1202 s, 1250 w, 1275 s, 1300 s, 1335 m, 1350 w, 1370 sh, 1372 s, 1410 s, 1440 w, 1450 w, 1460 s, 1482 w, 1495 w, 1502 w, 1520 w, 1538 sh, 1580 sh, 1595 w, 1610 w, 1615 w, 1625 w, 1638 w, 1662 s, 2850 w, 2870 w, 2938 s, 2970 w, 3048 w, 3060 w, 3250 sh, 3450 s.

8.7. Hydrierung von Gn_{125} *

3 ml Katalysator (Pd/C 10%) wurden in frisch destilliertem Essigester verteilt und bis zur Sättigung vorhydriert. Darauf wurden 5 ml der Substanz zugegeben. Nach 1 1/2 Std. nahm die Substanz keinen Wasserstoff mehr auf. Bis zu diesem Zeitpunkt waren 0,25 ml verbraucht. Nach Berück-

---

* Die Hydrierung wurde mit der Mikrohydrierapparatur nach Grewe durchgeführt (58)

sichtigung der Temperatur (22,2°), des Luftdruckes (756,8 Torr) und des Dampfdruckes von Essigester bei 22,2° (77,5 Torr) war die aufgenommene Menge Wasserstoff 0,302 ml. Theoretisch hätten 0,288 ml aufgenommen werden müssen.

1. Theoretischer Verbrauch (58):

$$v = \frac{1,22400.0,005.760.295,2}{422 \cdot 756,8 \cdot 273}$$

$$v_{theor.} = 0,288 \text{ ml } H_2$$

2. Praktischer Verbrauch (61):

$$v = \frac{295,2 \cdot 760 \cdot 0,25}{273\ (756,8-77,5)}$$

$$v = 0,302 \text{ ml } H_2$$

IR-Spektrum: (1,24 mg/150 mg KBr)

695 m, 740 w, 750 w, 780 sh, 800 s, 860 w, 890 w, 900 w, 910 w, 920 w, 930 w, 940 w, 950 w, 960 w, 1025 s, 1090 s, 1135 w, 1155 w, 1175 w, 1185 w, 1210 w, 1255 s, 1285 w, 1295 w, 1325 w, 1390 w, 1445 m, 1450 w, 1490 w, 1500 w, 1545 w, 1555 w, 1600 sh, 1610 sh, 1620 m, 1630 w, 1640 w, 1645 m, 1655 m, 2830 m, 2900 m, 2940 s, 3000 w, 3180 m, 3400 m.

VII Diskussion

Die leichte Zugänglichkeit und die große Mannigfaltigkeit der Flavonoide verleiten immer wieder dazu, die Identifizierung besonderer Strukturtypen dieser Verbindungen als Ausgangspunkt für eine kritische Betrachtung über deren Wert in der Chemotaxonomie zu nehmen.
Den Flavonoiden kommt als chemischen Ubiquitisten im Pflanzenreich im allgemeinen nur geringe chemotaxonomische Bedeutung zu. Es existieren jedoch einige Vertreter dieser Stoffgruppe mit besonderem Hydroxylierungsmuster, die bisher nur in wenigen Pflanzen gefunden wurden. In diesem Fall können sie für die Chemotaxonomie von Interesse sein (70). Zu diesen selten auftretenden Flavonoiden gehören die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Strukturtypen.

Nach allem, was heute über die Biosynthese der Flavonoide bekannt ist, stammt der aromatische Ring A aus Acetat bzw. Malonyl-CoA, der aromatische Ring B dagegen aus Shikimisäure bzw. Phenylbrenztraubensäure. Dieser C_6-C_3-Körper stellt aber auch ein wichtiges Zwischenprodukt des Aminosäurestoffwechsels dar, als Bauelement der aromatischen Aminosäuren Phenylalanin, Tyrosin und Hydroxytyrosin. Aus dieser Tatsache kann man schließen, daß sich der C_9-Körper und damit die Flavonoide einmal im Zuge des Eiweißaufbaues, sodann aber auch im Zuge des Eiweißabbaues (67) bilden können.
Betrachtet man auf dieser Grundlage die Gesamtheit der bisher in der Natur aufgefundenen Flavonoide, so stellt man fest, daß tatsächlich die in der Natur am häufigsten vorkommenden Flavonoide im A-Ring alternierende O-Funktionen (der "Triacetatkette") tragen, im B-Ring aber das Substitutionsmuster der genannten aromatischen Aminosäuren, wobei der unsubstituierte B-Ring der entsprechenden Aminosäure Phenylalanin wesentlich seltener vorkommt.

Nun gibt es aber Flavonoide mit Substitutionsmustern, die nicht mehr so ohne weiteres mit den "üblichen" Biosynthese-Vorstellungen zu erklären sind, wie z.B. die aus der lipophilen Fraktion von Gnaphalium obtusifolium und Helichrysum arenarium isolierten Flavone. Es war als erster Seshadri (68), der die Ansicht äußerte, diese vom Grundtypus bezüglich der Hydroxylierung abweichenden Flavonoide könnten ihre Ausbildung dem Eingreifen von Oxydationsvorgängen verdanken, die nicht allgemein verbreitet sind. Kennzeichen dieser "unüblichen" biologischen Flavonoxydation sei es, daß Hydroxylierung nur in ortho- oder para-Stellung zu einer bereits im Molekül vorhandenen OH-Gruppe erfolgen könne. Als ein Analogon für eine solche Reaktion nennt Seshadri die Persulfatoxydation, die über das entsprechende para-Chinon abläuft.

Diese Hypothese wird in gewisser Weise durch in der Natur genuin aufgefundene Pigmente der Chalkon-Flavanonreihe bestätigt, die eine solche p-Chinongruppierung besitzen (Carthamus tinctorius, Compositae; Didymocarpus pedicellata, Gesneriaceae) (69).

Die in dieser Arbeit beschriebenen Flavone sind auffällige Vertreter der im B-Ring unsubstituierten, im A-Ring hochsubstituierten Flavonoide. Ihr chemotaxonomischer Wert wird in dem vorliegenden Falle noch dadurch erhöht, daß ihre Lipophilität auf eine auffällige Methylierungsaktivität der Pflanze schließen läßt. So konnte z.B. neben dem 5,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxyflavon auch das 5-Hydroxy-3,7,8-trimethoxyflavon isoliert werden. Vergleicht man nun die Ergebnisse der Arbeit von R. Schwarz (31) über Helichrysum arenarium mit den Resultaten der vorliegenden Arbeit, so stellt man fest, daß das in Helichrysum arenarium aufgefundene 3,5-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavon das Monomethylderivat des aus Gnaphalium obtusifolium isolierten 3,5,7-Trihydroxy-6,8-dimethoxyflavons darstellt. Die "Sekundärhydroxylierung" und die auffällige "Methylierungsaktivität"

ist demnach beiden Arten eigentümlich.
Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die beiden Arten Gnaphalium obtusifolium und Helichrysum arenarium, die von den Botanikern aufgrund morphologischer Merkmale in zwei verschiedenen Gattungen untergebracht werden, vom vergleichend chemotaxonomischen Standpunkt aus offensichtlich nahe verwandt sind.
Es wird interessant sein, ob nicht doch eine neue morphologische Bearbeitung des Verwandtschaftskreises die beiden Arten Helichrysum arenarium und Gnaphalium obtusifolium in ein und dieselbe Gattung unterbringt.

VIII Zusammenfassung

Der Petrolätherextrakt der oberirdischen Teile von Gnaphalium obtusifolium wurde durch die Behandlung mit 60% Äthanol in eine hydrophile und eine lipophile Fraktion getrennt. Die Chloroformausschüttelung des hydrophilen Teiles wurde säulenchromatographisch an Kieselgel in dem Laufmittel Benzol/Aceton (95:5) aufgetrennt. Dabei konnten folgende Stoffe isoliert werden:

a) Gn wurde hauptsächlich durch spektroskopische Methoden als 5,7-Dihydroxy-3,8-dimethoxyflavon identifiziert.

b) Gn_2 konnte als Monomethyläther des Gnaphaliins (= 5-Hydroxy-3,7,8-trimethoxyflavon) ermittelt werden. Bewiesen wurde die Struktur durch die Synthese und den Vergleich mit dem durch Behandlung mit Diazomethan erhaltenen Monomethyläther des Gnaphaliins.

c) Gn_3 wurde chromatographisch und spektroskopisch mit dem 3,5-Dihydroxy-6,7,8-trimethoxyflavon sowie dem entsprechenden Mono- bzw. Dimethyläther dieses Flavons verglichen. Dadurch konnte die Substanz als 3,5,7-Trihydroxy-6,8-dimethoxyflavon bewiesen werden.

d) Gn_{125} wurde spektroskopisch als B-Ring unsubstituiertes Flavanon identifiziert. Der A-Ring ist mit einem bisher noch nicht beschriebenen C_9-Rest besetzt. Wegen der geringen Substanzmenge konnte die Konstitution des C_9-Restes nicht ermittelt werden.

Die Isolierung dieser vier B-Ring unsubstituierten Flavonoide wurde zum Anlaß genommen, um einige kritische Bemerkungen zur Problematik des Wertes dieser Stoffgruppe in der Chemotaxonomie zu machen.

IX Literaturverzeichnis

1. L.H. Briggs u. L.D. Colebrook: Spectrochim. Acta 18, 939 (1962)
2. B.L. Shaw u. T.H. Simpson: J. Chem. Soc. 655 (1955)
3. Bellamy: Ultrarot Spektroskopie, 2. Aufl., Dr. Dietr. Steinkopff Verlag Darmstadt (1966)
4. L. Farkas, M. Nogradi, V. Sudarsanam u. W. Herz: Tetrahedron 23, 3557-3561 (1967)
5. Budzikiewicz, Djerassi u. Williams: Structural Elucidation of Natural Products by MS, 2, 262, Holden-Day, Inc. San Francisco (1964)
6. A. Pelter, R. Warren u. M. Hyas: Experientia 25, 350 (1969)
7. H.W. Rickett: Wild Flowers of the USA, Vol. 2, 2, 606 (1968), McGraw-Hill Book-Company,New York
8. Hegi, VI/3, Lieferung 2 (1965)
9. P.J. Jannke: Pharm. Arch. 9, 17-32 (1938)
10. F. Bohlmann, C. Arndt u. C. Zdero: Ber. 99, 1648 (1966)
11. H.L. Hergert u. E.F. Kurth: J.Amer.Chem.Soc. 75, 1622 (1953)
12. J.H. Locker u. W.W. Hanneman: J.Org.Chem. 27, 381 (1962)
13. H. Wagner in J.B. Pridham: Methods in Polyphenol Chemistry, 37 ff. Pergamon Press (1963)
14. Smythe: Amer.J.Pharm. 121 (1890)
15. Madaus: Lehrbuch der biologischen Heilmittel, Abt. 1, Heilpflanzen Bd. 2, 1474 (1938)
16. L. Jurd: Phytochem. 8, 445-462 (1969)
17. B. Skarzynski: Biochem. Zeitschr. 301, 151-169 (1938)
18. R.M. Horowitz u. L. Jurd: J.Org.Chem. 26, 2446 (1961)
19. H.H. Lee u. Ch. Tau: J.Chem.Soc. 2743 (1965)
20. L. Farkas, M. Nogradi , V. Sudarsanam u. W. Herz: J.Org.Chem. 21, 3228 (1966)
21. A. Pelter, P. Stainton u. M. Barber: J.Heterocycl. Chem. 2, 262 (1965)
22. A.J. Scott: Interpretation of the Ultraviolet Spectra of Natural Product Pergamon Press Oxford (1964)

23. A. Suhr: Anwendung der Kernmagnetischen Resonanz in der Organischen Chemie (1965)
24. J. Massicot, J.P. Marthe u. Mme S. Heitz: Bull.Soc. Chim.France 2712-21 (1963)
25. T.J. Batterhan u. R.J. Highet: Austr.J.Chem. 17, 428-39 (1964)
26. J.W. Clark-Lewis , L.M. Jackman u. F.M. Spotswood: Austr.J.Chem. 17, 632-48 (1964)
27. G.M. Barton: Canad.J.Chem. 45, 1020 (1967)
28. A. Grouiller: Bull.Soc.Chim.France 7, 2405-11 (1966)
29. W. Brune u. T.A. Geissman: Austr.J.Chem. 18, 1649-54 (1965)
30. L. Farkas, A. Gottsegen u. M. Nogradi: Acta Chim. Acad.Sci.Hung. 55, 311 (1968)
31. R. Schwarz: Dissertation Freie Universität Berlin (1968)
32. L. Hörhammer u. R. Hänsel: Arch.Pharm. 286, 425, 447 (1953), 288, 315 (1955)
33. R. Hegnauer: Chemotaxonomie der Pflanzen 3, Basel-Stuttgart (1964)
34. C. Mentzer: Actualites de Phytochimie Fondamentale 1,2,3 Paris (1964, 1966, 1968)
35. T.J. Mabry, J. Kagan u. H. Rösler: Phytochem. 4, 177-83 (1965)
36. L. Jurd in T.A. Geissman: The Chemistry of Flavonoid Compounds, 107 ff, Pergamon Press, Oxford-London-New York (1962)
37. J.B. Harborne u. T. Swain: Perspectives in Phytochemistry, 1-45 (1969)
38. J.W. Emsley, J. Feeney u. L.H. Sutcliffe: High Resolution NMR Spectroscopy 1, 357 ff, Pergamon Press (1966)
39. P. Ribereau-Gayon: Les composes phenolique des vegetaux, 133, Dunod, Paris (1968)
40. M. Sirait: Dissertation Freie Universität Berlin (1961)
41. K. Paech u. M.V. Tracey: 3, 489, Springer Verlag (1955)
42. A. Pelter u. P. Stainton: J.Chem.Soc.C, 1933 (1967)
43. H. Audier: Bull.Soc.Chim. 9, 2893 (1966)

44. G. Spiteller: Massenspektrometrische Strukturanalyse organischer Verbindungen, Verlag Chemie (1966)
45. A. Engler: Syllabus der Pflanzenfamilie 2, (1964)
46. G. Ege: Zahlentafel zur Elementaranalyse, Verlag Chemie (1966)
47. J.S. Waugh: Advances in Magnetic Resonance, 1, Academic Press (1965)
48. S. Favid: Tetrahedron 24, 2421 (1968)
49. J. Allen u. R. Robinson: J.Chem.Soc. 125, 2192 (1924)
50. C.W. Wilson: Amer.Chem.Soc. 61, 2303 (1939)
51. R. Hänsel u. J. Schulz: unveröffentlicht
52. J. Shinoda: J.Pharmac.Soc.Japan 48, 214 (1928)
53. K. Paech u. M.V. Tracey: 3, 473
54. K. Freudenberg, H. Finkentscher u. M. Harder: A 441, 168-70
55. K.V. Rao u. T.R. Seshadri: Proc.Ind.Sci.25A, 417-26 (1947)
56. E. Stahl: Dünnschichtchromatographie (1962) Reagenz Nr. 118
57. H. Schindler: Vorschläge für das neue Deutsche Homöopathische Arzneibuch, Heft 7 (1961)
58. F. Zymalkowski: Katalytische Hydrierung, Enke Verlag Stuttgart (1965)
59. L. Lang: Absorptionsspectra in the UV and visible Region, 1, 108, Budapest (1963)
60. H. Arakawa u. M. Nakazaki: A 635, 112-117 (1960)
61. Landoldt-Börnstein, 2, 6.Aufl.
62. T.R. Seshadri: Tetrahedron Letters 6, 169 (1959)
63. J.B. Harborne u. N.W. Simmonds in J.B. Harborne: Biochemistry of Phenolic Compounds, Academic Press London 109 (1964)
64. H. Rimpler: Dissertation Freie Universität Berlin (1964)
65. K. Walther: Dissertation Freie Universität Berlin (1968)
66. K. Mislow: Einführung in die Stereochemie, Verlag Chemie (1967)

67. H. Reznik: Ergebnisse der Biologie 23, 14 (1960); Untersuchungen über die physiologische Bedeutung der chymochromen Farbstoffe. Sitzungsbericht Heidelberg Akad. Wissensch. Jahrgang 1956, 2. Abhandlung

68. T.R. Seshadri: Tetrahedron 6, 169 (1959) und die dort angegebene ältere Literatur

69. S. Siddiqui: Ref.; Chem.Zbl.1939, I, 673; s. auch Hegnauer: Chemotaxonomie der Pflanzen, Bd.4, Basel 1966, 204 ff

70. R. Hänsel u. H. Rimpler: DAZ 108.Jahrgang 1968, 50, 1985-1994

X Lebenslauf

Ich wurde am 2. Dezember 1939 als zweiter Sohn des Otto Ohlendorf und seiner Ehefrau Ruth, geborene Kotthaus, in Soest/Westfalen geboren.

Nach 5 jähriger Grundschulzeit in Lüneburg besuchte ich dort das Johanneum.

Im Jahre 1952 siedelten wir nach Solingen-Wald über. An dem dortigen Humboldtgymnasium bestand ich im März 1960 das Abitur.

In der Alten Schulz'schen Apotheke in Eitorf/Sieg begann ich im gleichen Jahre meine zweijährige Praktikantenzeit, die ich im März 1962 mit der Pharmazeutischen Vorprüfung abschloß. Nach einjähriger Tätigkeit als Vorexaminierter in verschiedenen Apotheken, begann ich im Sommersemester 1963 das Studium der Chemie an der Technischen Universität Berlin. Vom Wintersemester 1963/64 an studierte ich dann Pharmazie an der gleichen Universität.

Im Oktober 1966 legte ich an der Freien Universität Berlin die Pharmazeutische Prüfung ab.

Seit Januar 1967 beschäftige ich mich mit der vorliegenden Arbeit unter der Leitung von Herrn Professor Dr. R. Hänsel am Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin.

Seit April 1967 bin ich an dem gleichen Institut als wissenschaftlicher Hilfsassistent tätig.

Die Bestallung als Apotheker erhielt ich im April 1968.

Druck: Dissertationsdruckstelle, 1 Berlin 33